IMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN PATIENTEN MIT TONSILLENCARCINOM

FRANZ XAVER GRUBER

1984

Diss
München

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel

IMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN PATIENTEN MIT TONSILLENCARCINOM

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von

Franz Xaver Gruber
aus
Kienberg

München 1984

Berichterstatter:	Professor Dr. C. Hammer
Mitberichterstatter:	Professor Dr. W. Brendel
Dekan:	Professor Dr. W. Spann
Tag der mündl. Prüfung:	15.11.1984

Widmung:

Meinen Eltern und meiner Frau Irmengard

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544313_0004

I N H A L T

1. E i n l e i t u n g

2. A n a t o m i e u n d P a t h o l o g i e
   d e s T o n s i l l e n c a r c i n o m s

3. M a t e r i a l u n d M e t h o d e
   - 3.1. Tumorsprechstunde
   - 3.2. Materialgewinnung
   - 3.3. Zellpraeparation
   - 3.4. Immunfluoreszenz
     - 3.4.1. Fluoreszenzmikroskop
     - 3.4.2. Immunfluoreszenz der Tumorzellen
     - 3.4.3. Spezifität der IgG-Antikörper
     - 3.4.4. Immunfluoreszenz der Abstrichzellen
   - 3.5. T-Zellbestimmung
   - 3.6. B-Zellbestimmung
   - 3.7. Suppressorzellaktivität

4. E r g e b n i s s e
   - 4.1. Das Tonsillencarcinom
   - 4.2. Immunfluoreszenz
   - 4.3. Suppressorzellaktivität, T-B-Zellverteilung

5. D i s k u s s i o n
   - 5.1. Das Tonsillencarcinom
   - 5.2. Immunfluoreszenz
   - 5.3. Suppressorzellaktivität, T-B-Zellverteilung

6. Z u s a m m e n f a s s u n g

7. L i t e r a t u r

8. A n h a n g

1. Einleitung

1.1. Aspekte der Tumorwahl

Das größte Problem für die Beobachtung einer gegen einen Tumor gerichteten Immunität beim Menschen ist meist die späte Entdeckung und das fortgeschrittene Stadium des Malignoms. Bei soliden Tumoren gestaltet sich zusätzlich die weitere Beobachtung des Tumorwachstums und die posttherapeutische regelmäßige Überwachung deshalb schwierig, weil die Tumoren häufig lokal nicht leicht zugänglich sind. Daher ist ein Vergleich der allgemeinen immunologischen Faktoren und deren Einfluß auf den Tumor mit dem entsprechenden Tumorwachstum sowohl in zeitlicher als auch in größenmäßiger Hinsicht nicht möglich.

Hier bietet das Plattenepithelcarcinom der Tonsille durch seine relativ leichte Zugängigkeit als oberflächlich wachsendes Carcinom eine gute Ausgangsposition. Es stellt gleichzeitig als Variation des Plattenepithelcarcinoms eine einmalige Situation dar, da es das einzige echte Carcinom ist, das direkt auf einem lymphatischen Organ, nämlich der Tonsille, wächst. Eine weitere Besonderheit des Tonsillencarcinoms ist seine ausgeprägte Tendenz zur Infiltration und vor allem zu einer frühzeitigen Metastasierung, dies fast ausschließlich in die drainierenden Lymphknoten. Außerdem wird beim Tonsillencarcinom eine hohe Rate von lokalen Rezidiven beobachtet, so daß zumindest bei einer konsequenten Überwachung die Lokalrezidive frühzeitig erfaßt werden können. Diese Voraussetzungen waren es, das Tonsillencarcinom für unsere Fragestellung zu nützen.

1.2. Immunologische Grundlagen

Ausgangspunkt für unsere einzelnen Untersuchungen sind die Interaktionen und Reifungsvorgänge der Zellen des immunologischen Systems und deren Reaktionen auf Stimuli wie sie zum Beispiel Tumorantigene darstellen. Es wird davon ausgegangen, daß diese Zellen des lymphatischen Systems aus den sogenannten Stammzellen des Knochenmarkes entstehen (Abb. 1). Aus den Stammzellen entwickeln sich zwei Arten von Zellen. Erstens die B-Zellen, die wahrscheinlich im "microenvironment" der Peyerschen Plaques heranreifen. Von diesen immunologischen Organen des Darmes nimmt man an, daß sie das Äquivalent der Bursa fabricii der Vögel darstellen. B-Zellen wandeln sich nach Stimulation durch Antigen in Plasmazellen um und beginnen spezielle Antikörper zu produzieren. Dabei gibt eine Plasmazelle etwa 2.000 Antikörpermoleküle pro Minute in das periphere Blut ab. Die Immunglobulinmoleküle auf der Oberfläche der B-Zellen besitzen dieselben Antigenbindungsstellen wie die Antikörpermoleküle auf den Plasmazellen. Die Antikörper stellen Immunglobuline der Klassen Immunglobulin G, M, A, E und D dar. Einige Klassen, vor allem IGG und IGM können sich gegen das als Stimulans wirkende Antigen, dementsprechend auch gegen Tumorantigen, richten.

Die zweite Zellart stellen die T-Zellen dar. Ihr Reifungsprozeß spielt sich im "Microenvironment" des Thymus ab. Diese Zellpopulation ist verantwortlich für die klassischen Reaktionen der zellulären Immunität: "Graft versus host"-Reaktion, Zytotoxizität, Transplantatabstoßung, Antivirenreaktion und Tumorzellyse.

Diese T-Zellen exprimieren antigenbindende Rezeptoren, die Ähnlichkeit mit den variablen Regionen der schweren Ketten der Immunglobuline aufweisen. Sie produzieren aber dennoch keine Immunglobuline.

Bestimmte T-Zellgruppen vermögen die humorale Immunantwort zu beeinflußen, indem sie die T- und B-Zellreaktionen im positiven oder negativen Sinne zu steuern vermögen. Sie heißen Regulatorzellen. T-Zellen, welche die humorale und die zelluläre Abwehr fördern können, werden Helferzellen genannt, während jene Zellen, die die humorale Antwort zu unterdrücken vermögen als Suppressorzellen bezeichnet werden. Es ist anzunehmen, daß diese T-Zellen erst zu Suppressor- bzw. Helferzellen heranreifen müssen, das heißt, daß bestimmte Vorläufer für diese Zellen bestehen.

Einen weiteren Einfluß auf die immunologische Balance besitzen Monocyten und Makrophagen, indem sie selbst eine Suppressor- oder Helperfunktion entwickeln.

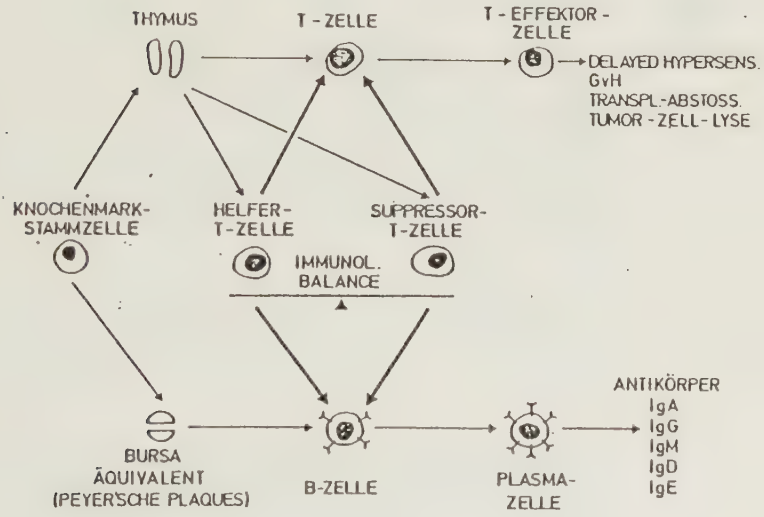


Abb. 1.: Reifungsvorgänge der Zellen des immunologischen Systems. T- und B-Zellentwicklung aus dem Knochenmark. Interaktionen von Helper- und Suppressorzellen und deren Beeinflußung der immunologischen Balance (siehe Text).

Physiologischerweise besteht eine immunologische Homöostase zwischen Helper- und Suppressorzellen. Wird durch chronische Antigenstimulation das immunologische System aktiviert, so werden reaktiv Suppressorzellen eine überschießende Immunantwort abblocken, um so den Körper zum Beispiel vor Autoimmunreaktionen zu schützen. So kann im extremen Falle durch die Suppressorzellen eine Abblockung der gesamten Immunantwort erfolgen, die sich im günstigen Fall als Immuntoleranz darstellt, im ungünstigen Fall als Atopie. Umgekehrt kann ein Mangel an Suppressorzellen zu Autoimmunerkrankungen führen.

1.3. Tumorentwicklung und seine Wirkung auf das Immunologische System.

Es kann als gesichert angenommen werden, daß bei der Tumorentstehung ein Wechsel im antigenen Spektrum dieser neoplastischen Zellen auftritt. Ist der Tumor experimentell chemisch induziert, so entstehen vielfältige Antigenstrukturen, die unabhängig von dem chemischen Cancerogen sind. Wird zum Beispiel bei einem Versuchstier zweimal ein Tumor mit demselben Carcinogen chemisch induziert, so können trotzdem beide Tumore unterschiedliche Antigene auf ihren Zelloberflächen tragen. Demgegenüber entwickeln Tumoren, die durch Viren induziert werden, immer dieselben viralen antigenen Strukturen.

Daher kann der Körper gegen dieses Antigen eine Immunantwort entwickeln, der er bei einer weiteren Exposition durch denselben cancerogenen Virus standhalten kann. Von spontan entstehenden Tumoren wird angenommen, daß sie den chemisch induzierten Tumoren ähnlich sind, dementsprechend also viele verschiedenartige Antigene tragen. Diese Antigene stellen zum Teil neu aufgetretene, dem Körper unbekannte Neoantigene oder tumorspezifische Antigene dar (TSA), andererseits kommt es zum Verlust von physiologischen Antigenen bei diesen Zellen.

Tritt im Körper ein solches tumorspezifisches Antigen auf, erfolgt offensichtlich eine Aktivierung des immunologischen Systems. In der primären zellulären Immunantwort erkennen T-Zellen das tumorspezifische Antigen, treten mit dem Antigen in Kontakt und vermögen die Tumorzellen zu lysieren. B-Zellen wandeln sich nach dem Kontakt mit dem tumorspezifischen Antigen in Plasmazellen um und produzieren spezifische Antikörper (Abb. 2).

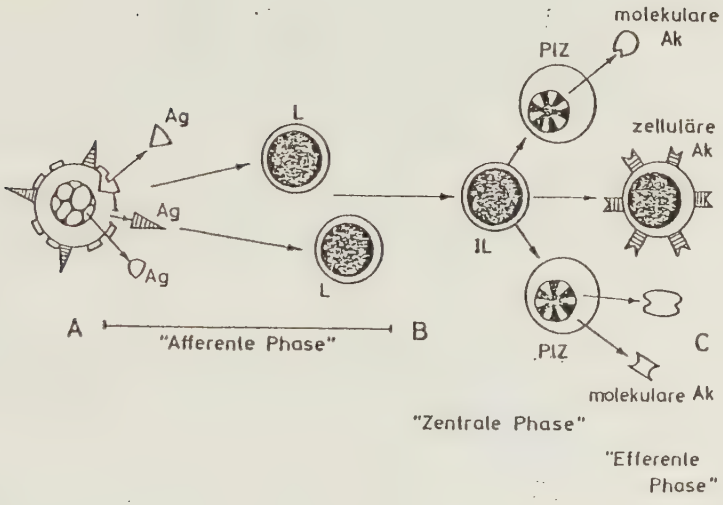


Abb. 2.: Tumorantigenwirkung auf das lymphatische System

Ag	=	Tumorantigen
L	=	Lymphocyten
IL	=	Immunisierte Lymphocyten
PlZ	=	Plasmazellen
Ak	=	Antikörper

Die Körperabwehr unterstützend werden anfangs wahrscheinlich Helferzellen aktiviert, während später unter chronischem Antigenangebot vermehrt eine suppressive Aktivität eintritt, die den Körper vor der nun überschießenden Reaktion schützen soll.

Daß die Tumorzellen weiter proliferieren können und der sogenannten Immunsurveillance entkommen, dürfte auf verschiedenen Möglichkeiten beruhen .(51) (Abb. 3).

1. Der Möglichkeit, daß der Tumor die antigenen Strukturen, die er bei seiner Entstehung angenommen hat, wieder verliert, und so überwiegend normales Antigen trägt, das vom Immunsystem als nicht fremd erkannt wird, also auch keine Reaktion hervorruft.

2. daß der Tumor ständig seine Antigenstrukturen wandelt, bevor sich die immunologische Abwehr voll entwickeln kann.

3. daß der Tumor selbst lösliches Antigen in das Serum abgibt. Dieses Antigen wird, wenn es im Überschuß vorhanden ist gegenüber den produzierten Antikörpern, diese Antikörper durch Bildung von Antigen-Antikörperkomplexen abfangen.

4. Die Antikörper, die von B-Zellen gebildet wurden, binden sich an die Tumorzellen, führen aber nicht zur Lyse der Tumorzellen (Enhancing-Ak). Durch die anhaftenden körpereigenen Antikörper wird der Tumor maskiert und stellt für den Körper kein antigenes Stimulans dar.

5. Durch eine überschießende Aktivierung von Suppressorzellen wird eine effetive Immunabwehr verhindert und indirekt das Tumorwachstum geschützt.

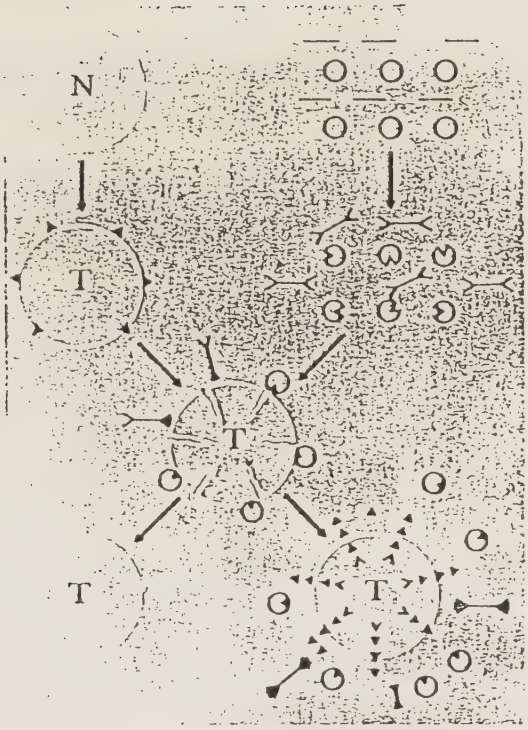


Abb. 3.: Escapephänomene bei der Tumorentwicklung:
durch Abgabe von löslichen Antigenen; Wandlung der
Tumorantigenität; Annahme von Normalantigenen

1.4. Fragestellung

Die regelmäßige Nachuntersuchung von Tonsillencarcinompatienten sollte eine Möglichkeit schaffen, einen besseren Einblick in immunologische Problemkreise zu schaffen und diese im Hinblick auf Folgendes zu untersuchen:

1. Beobachtungen der immunologischen Abwehrlage und deren Reaktionsmöglichkeiten beim Tonsillencarcinompatienten.

2. Beobachtung von Krankheitsverlauf mit den gewonnenen immunologischen Parametern.

3. Beobachtung der immunologischen Verhältnisse während Änderungen des Tumorverhaltens, sei es in Form eines Rückgangs der Tumormasse oder eines Tumorrezidives.

4. Beobachtung der Auswirkungen der Tumorexstirpation im immunologischen Geschehen.

5. Beobachtung der Art der Therapie auf die Abwehrlage der Carcinompatienten.

Zielsetzung bei der Untersuchung des humoralen Teiles des Abwehrsystems beim Tonsillencarcinom war:

1. Nachweis spezifischer autologer Antitumor-Antikörper beim Tonsillencarcinompatienten

2. Identitätsnachweis von Antikörpern gegen den Primärtumor, dessen Metastasen und den Rezidivtumor

3. Veränderungen der Oberflächenantigene von Tumorzellen aus dem Primärtumor, den Metastasen und dem Rezidivtumor

4. Klassifizierung der tumorspezifischen Antikörper

5. Korrelation der Höhe der individualspezifischen Antikörper mit dem Tumorwachstum.

6. Früherkennung von Rezidiven mittels des Nachweises tumorspezifischer Antikörper auf den Abstrichzellen aus dem rezidivverdächtigen Gebiet.

2. ANATOMIE UND PATHOLOGIE DES TONSILLENCARCINOMS

2.1. Die Tonsille

2.1.1. Embryonale Entwicklung:

Die Gaumenmandel entsteht im 3.-4. Embryonalmonat im Rahmen der Entwicklung des lymphatischen Rachenringes. Zunächst wandern die lymphatischen Zellen nur diffus in das Gewebe ein. Bis zum 7. Embryonalmonat organisieren sich die Zellen zu primären Lymphknötchen. Die Sekundärfollikel entstehen nach der Geburt durch die Reaktion der Lymphocyten der Primärfollikel auf externe Antigenstimulation hin. Die Tertiärfollikel sind größer als die Primär- und Sekundärfollikel und enthalten vorwiegend T-Lymphocyten.

2.1.2. Anatomie

Die Tonsilla palatina wird von den beiden Gaumenbögen begrenzt, die die Tonsille meistens überragen. Die Längsachse der Mandeln liegt parallel den hinteren Gaumenbögen an. Oberhalb der Mandeln liegt die Fossa supratonsillaris. An der lateralen Seite liegen sie den M. constrictores pharyngis superiores an. Abgegrenzt werden die Tonsillen gegen die Umgebung durch eine Bindegewebskapsel. Die Oberfläche der Mandeln ist mit Plattenepithel ausgekleidet. Ebenso mit Plattenepithel bedeckt sind die 12 - 15 Fossulae tonsillares, die kleinen Vertiefungen entsprechen, in die die zahlreichen Tonsillenkrypten aus der Tiefe der Tonsillen münden. Durch diese Krypten und Fossulae erhält die Tonsille eine erhebliche Oberflächenvergrößerung auf 295 cm^2 (80).

Zwischen dem Epithel der Krypten und dem darunterliegenden lymphatischen Gewebe besteht ein enger Kontakt, indem die Lymphocyten in das Epithel einwandern.

Das lymphatische Gewebe der Tonsille wird in Rinde, Paracorticalzone und Mark eingeteilt. In der Rinde befinden sich Primär- und Sekundärfollikel, während die Tertiärfollikel in den tiefergelegenen Parakortikalzone liegen. Das diffuse lymphatische Gewebe aller drei Zonen wird als Pulpa bezeichnet (60, 13) (Abb. 4)

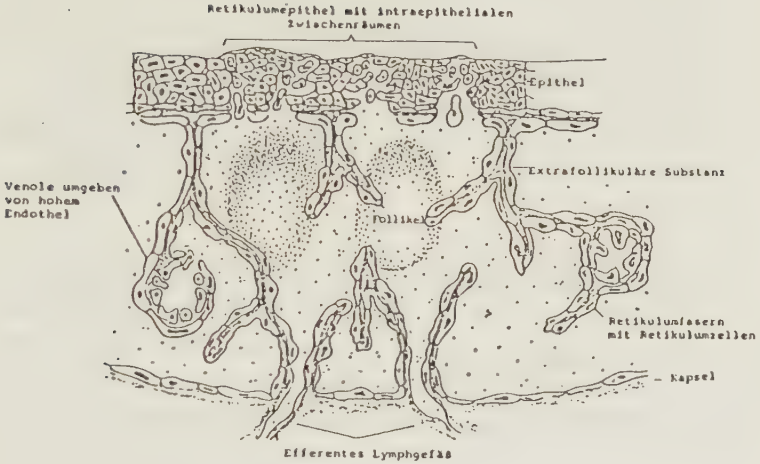


Abb. 4.: Histologischer Aufbau der Tonsille:
Abrenzung gegen die Mundhöhle mit Plattenepithel. Anschließend die eigentlichen lymphatischen Strukturen mit den Lymphfollikeln.

2.1.3. Gefäßversorgung der Tonsille

Die Blutversorgung der Tonsilla palatina übernimmt die Arteria palatina ascendens, die den größten Teil der Tonsille versorgt. Nur kleine Gebiete versorgen Äste der Arteria pharyngea ascendens, rami dorsales lingquae und Zweige der Arteria palatinae minores. Zum Teil bestehen auch Anastomosen der versorgenden Arterien untereinander. Der Venenabfluß erfolgt über die Venen des Zungengrundgebietes, über die Vena facialis und der Vena jugularis interna.

Der Lymphabfluß erfolgt durch die Pharynxwand nach außen, zusammen mit den Lymphbahnen des vorderen und hinteren Gaumenbogens, des Zungengrundes und der lateralen Pharynxwand. Diese ziehen zu den Nn. lymphatici cervicales profundi medii, die am Zusammenfluß der Vena jugularis und der Vena facialis unter dem Unterkieferwinkel liegen.

Eine weitere Bedeutung für den Lymphabfluß stellen die Nodi lymphatici cervicales profundi posteriores dar, die im lateralen Halsdreieck zwischen dem M.sternocleidomastoideus und dem M. trapezius liegen. Diese Lymphknoten kommunizieren mittelbar mit allen Abflußwegen des Pharynx in Verbindung (12).

Ferner muß beachtet werden, daß am Zungengrund die Lymphabflußbahnen sich nicht streng auf eine Seite beschränken, sondern teils auch auf die kontralaterale Seite übergreifen. Dieser bilaterale Abfluß tritt im mittleren weichen Gaumen, dem mittleren Zungengrund und in der Epipharynxmitte auf (60).

2.2. Pathologie der Tonsillentumoren

2.2.1. Tumorarten

Das Tonsillencarcinom, ausgehend von den Plattenepithelzellen, umfaßt mit 60 - 70 % aller Tonsillentumoren den größten Anteil der malignen Tumoren in diesem Bereich (84, 90, 11). Die zweite Gruppe bilden mit ungefähr 25 % die Sarkome der Tonsille. Als weitere Tumoren treten noch die lymphoepithelialen Tumoren (Schmincke-Regaud) auf. Eine nur untergeordnete Rolle spielen die Retikulozell-sarkome.

Gegenüber den Primärtumoren der Tonsille treten metastatische Absiedlungen mit ungefähr 3 % in den Hintergrund (83, 84).

Zu den Vorstadien der Mundhöhlencarcinome werden die Leukoplakien gerechnet. Die Entartungsfrequenz schwankt unterschiedlich von der Art der Gewebsveränderung. Bei der erosiven Leukoplakie wird eine Entartungshäufigkeit von 26 % gefunden, bei der verucösen Leukoplakie hingegen 5 % (10, 19, 23).

2.2.2. Histologie des Tonsillencarcinoms

Bei Tonsillencarcinomen werden histologisch 4 Stadien unterschieden. 2 % der Carcinome bestehen aus sehr ausdifferenzierten Zellen vom Grad I (G I). Das anaplastische Carcinom enthält sehr undifferenzierte Zellen. Diesen Grad IV (G 4) des histologischen Typs haben 9 % der Tonsillencarcinome. Der Rest der Tonsillencarcinome teilt sich auf die Grade II und III auf. Bei diesen mäßig differenzierten Carcinomen kann häufig nicht unterschieden werden, welchem histologischen Grad sie zuzuordnen sind. Deshalb werden diese beiden Gruppen auch meist zusammengefaßt. Sie bilden auch mit 89 % den größten Teil der Carcinome.

2.2.3. Klassifizierung der Tumorausdehnung (Abb. 5)

Zur Einteilung der Tumorausdehnung wird das TNM-System nach der UICC-Klassifizierung angewandt.

STADIEN - KLASSIFIZIERUNG (TNM)

T - PRIMÄRTUMOR
- IS PRÄINVASIVES CARCINOM (CARCINOMA IN SITU)
- 0 PRIMÄRTUMOR NICHT ERKENNBAR
- 1 TUMOR BESCHRÄNKT AUF EINEN BEZIRK
- 2 TUMOR BESCHRÄNKT AUF ZWEI BEZIRKE
- 3 TUMOR ÜBER DEN OROPHARYNX HINAUSGEHEND

N - REGIONALE LYMPHKNOTEN
- 0 KEINE PALPABLEN REGIONALEN LYMPHKNOTEN
- 1 BEWEGLICHE, HOMOLATERALE REGIONALE LYMPHKNOTEN
- 2 BEWEGLICHE, KONTRALATERALE ODER BILATERALE REGIONALE LYMPHKNOTEN
- 3 FIXIERTE LYMPHKNOTEN

M - FERNMETASTASEN
- 0 KEINE NACHWEISBAREN FERNMETASTASEN
- 1 FERNMETASTASEN VORHANDEN

Abb. 5.: Einteilung des TNM-Systems nach I U C C
(Internationale Union Cancer Classification)

T bedeutet die lokale Ausdehnung des Primärtumores. T IS wird als Carcinoma in situ bezeichnet. Anschließend folgen mit T 1 jene Tumoren, deren lokale Ausdehnung weniger als 2 cm beträgt, die T 2 Tumoren mit 2-4 cm und T 3 Tumoren mit mehr als 4 cm. Alle Tumoren die eine massive Infiltration in die Tiefe und das umliegende Gewebe beinhalten, werden unabhängig von ihrer Größe als T 4 Tumoren bezeichnet.

Alle regionale Lymphknoten werden als N angegeben. Wurden keine palpablen Lymphknotenvergrößerungen gefunden, so werden die Tumoren als N o bezeichnet. Bei einem Lymphknotenbefall werden bewegliche homolaterale Lymphknoten als N 1, bewegliche kontra- oder bilaterale Lymphknoten als N 2 bezeichnet. N 3 bedeuten fixierte Lymphknoten. Bei der Fernmetastasierung wird nur zwischen dem Vorhandensein von Metastasen M 1 bzw. fehlender Fernmetastasierung M o unterschieden.

2.2.4. Stadienverteilung des Tonsillencarcinoms

Nur bei rund einem Drittel der Tumoren besteht bei der Diagnosestellung keine klinisch manifeste Metastasierung in die regionalen Lymphknoten. Meistens ist die lokale Tumorausdehnung weit fortgeschritten, sodaß Tumoren der T 1 Gruppe relativ selten sind im Gegensatz zu den Tumoren mit größerer Ausdehnung. Entgegengesetzt zur frühen Lymphknotenmetastasierung treten Fernmetastasen nur relativ selten und sehr spät auf. Es werden dann Metastasen vor allem in Lungen und Gehirn gefunden (11, 36, 44, 84, 90).

2.3. Symptomatik und Diagnosestellung des Tonsillencarcinoms

Bei Tonsillencarcinomen tritt eine deutliche Symptomatik aufgrund der Lage des Carcinoms in der Tonsillenloge sehr spät und erst bei großer Tumorausdehnung auf. Als Hauptsymptom werden Schluckbeschwerden, Stiche ins Ohr oder ein Kloßgefühl im Hals angegeben. Meist wird auch eine einseitige Verdickung am Hals bemerkt, falls eine Lymphknotenmetastasierung stattgefunden hat. Als selterenes Symptom kann Hämoptoe auftreten.

Die Diagnosestellung erfolgt aufgrund der Symptomatik. Zur Sicherung der Diagnose wird eine Probeexcision aus der befallenen Tonsille entnommen und das Carcinom histologisch gesichert.

Je nach Art des Tumorwachstums muß das Carcinom gegen verschiedene differentialdiagnostisch wichtige Erkrankungen der Tonsille abgegrenzt werden. Bei Ulzeration des Tumors ist stets auch an eine Angina Plaut-Vincenti, eine Agranulocytose und eine Tuberkulose zu denken. Bei tumorösen Veränderungen der Tonsille stellen sich als Differentialdiagnose zum Tonsillencarcinom: einseitige Hyperplasie der Tonsille, Morbus Hodgkin, großfollikuläres Lymphoblastom. Ebenso muß gegenüber dem Tonsillencarcinom histologisch eine Leukoplakie und eine Erythroplakie ausgeschlossen werden.

2.4. Therapie

Ist der Tumor auf die Tonsille allein beschränkt, so wird eine Tumortonsillektomie durchgeführt. Bei einer weiterreichenden Tumorausdehnung wird eine monobloc-Resektion vorgenommen (22, 84, 90, 100) Sie beinhaltet eine Tonsillenentfernung mit gleichzeitiger Lymphknotenausräumung am seitlichen Halsdreieck, bzw. eine neck-dissektion. Bei diesem Eingriff wird neben den Lymphknoten auch die Vena jugularis interna mitentfernt.

An alle operativen Therapien wird eine Nachbestrahlung angeschlossen, nach einigen Autoren auch eine praeoperative Bestrahlung (22, 90, 97). Bei Inoperabilität des Tumors erfolgt eine alleinige Bestrahlung des Tumors mit 6000 rad (36, 39, 44, 90, 100). Eine weitere Therapie besteht in der Verabreichung von Cytostatika. Hier wird meist eine Kombination aus Bleomycin, Vincristin und Methothrexat nach dem Bitterschema angewendet (Abb. 6).

Die Prognose des Tonsillencarcinoms ist aufgrund der meist späten Diagnosestellung sehr schlecht. Es besteht eine 5-Jahresüberlebensrate von 50 bis 60 Prozent bei Tumoren ohne Lymphknotenmetastasierung. Sind bereits Lymphknoten befallen, so muß mit einer Senkung der 5-Jahresüberlebensrate auf 20 bis 40 Prozent gerechnet werden. Bei 3 Jahren wird meist eine Überlebensrate von 40 Prozent angegeben (22, 36, 39, 44, 84, 90).

THERAPIEN

1. OPERATION < MONOBLOC / ENORAL + NECK-DISSECTION + NACHBESTRAHLUNG

2. PRIMÄRE BESTRAHLUNG

3. KOMBINATIONSTHERAPIE: CYTOSTATIKA: LEUKOVERIN
METHOTREXAT
BLEOMYCIN
NECK-DISSECTION
BESTRAHLUNG

Abb. 6.: Behandlungsarten bei Tonsillencarcinompatienten.

3. Material und Methoden

3.1. Tumorsprechstunde

Die Erhebung der Patienten und deren Tumorstadium erfolgte entsprechend der Tumorsprechstunde der Hals-Nasen-Ohren-Klinik Großhadern für Tonsillencarcinompatienten. Die Patienten, die nach Großhadern einbestellt wurden, kamen vorwiegend aus Südostbayern. Sie wurden zu den jeweiligen Terminen angeschrieben, bzw. wurde der jeweilige nächste Termin an den Einbestellungstagen mitgeteilt. Zur Nachsorgeuntersuchung einbestellt wurde zum Untersuchungstermin je eine Hälfte der Patienten, sodaß für die Patienten selbst ein Untersuchungsabstand von 8 Wochen bestand.

Die Untersuchung umfaßte:

1. Kurze Anamnese unter besonderer Berücksichtigung unserer Patienten.

2. Naso-Pharynxspiegelung und Inspektion der Mundhöhle, insbesondere der Tonsillenlogen.

3. Palpation des Lymphabflußgebietes der Tonsille auf evtl. neu aufgetretene Lymphknotenvergrößerungen.

4. Gewinnung von Mundabstrichen aus der befallenen Tonsillenloge und der kontralateralen Seite.

5. Postoperative Wundversorgung.

Zu den experimentellen Untersuchungen wurde anschließend den Patienten Blut entnommen.

1. 5 ml Blut in Natriumcitrat für BKS

2. 10 ml zur Serumgewinnung (Nativblut)

3. 20 ml zur Erstellung eines kleinen Blutbildes und zu immunologischen Untersuchungen (heparinisiertes Blut: 0,1 ml Hep./ml Blut).

3.2. Materialgewinnung

3.2.1. Tumorpraeparate

Chirurgisch entfernte Tumorpraeparate von histologisch verifizierten Tonsillencarcinomen wurden sofort nach der Operation in Hank´sche Lösung gelegt. Bis zur Aufbereitung in Einzelzellen wurden sie bei 4 ° C aufbewahrt. Wurde ein Patient nicht operiert, sondern entweder cytostatisch behandelt oder nur bestrahlt, so wurde im Rahmen der histologischen Untersuchungen noch vor dem Behandlungsbeginn durch eine Probeexcision Material aus dem Tumor gewonnen, das zu immunologischen Untersuchungen zur Verfügung stand.

3.2.2. Blut

Vor der Behandlung und zum Behandlungszeitpunkt wurde den Patienten ebenfalls Blut zu immunologischen Untersuchungen entnommen, jeweils 10 ml Nativblut zur Serumgewinnung und 20 ml heparinisiertes Blut für die Zelluntersuchungen. Dieselbe Menge an Blut wurde den Patienten an den jeweiligen Einbestellungsterminen zu den entsprechenden Untersuchungen entnommen.

3.2.2. Gewinnung und Praeparation von Abstrichen

Von allen Patienten wurde jeweils zu Behandlungsbeginn und später in achtwöchigen Abständen zu den jeweiligen Einbestellungen Mundabstriche angefertigt. Vor der Abstrichentnahme mußten die Patienten durch gründliche Spülung der Mundhöhle mit Wasser vom Abstrichgebiet vor allem Schleim bzw. Verunreinigungen anderer Art entfernen. Durch mehrfaches Abstreichen der von dem Tumor befallenen Tonsillenlogen bzw. vom Operationsfeld mit einem Wattestäbchen wurde versucht, möglichst viele Zellen an den Wattestäbchen festzuhalten. Bei diesen Zellen handelt es sich um noch vorhandene normale Plattenepithelzellen, um Tumorzellen bei noch nicht behandelten Patienten

oder Patienten, bei denen eine cytostatische oder eine Bestrahlungsbehandlung begonnen wurde, oder um Tumorzellen aus neu aufgetretenen Tumorrezidiven. Ebenso wurde mit der kontralateralen Seite verfahren. Die in der Watte haftenden Zellen werden durch Aufschütteln mit einem Whirl-Mix herausgelöst und in 4 ml Hank'scher Lösung in Suspension gebracht. Nach einmaligem Waschen (s.d.) werden die Zellen mittels einer Cytozentrifuge (a) auf einen Objektträger innerhalb eines Kreises von 0,5 cm Durchmesser konzentrisch aufgetragen. Da es sich meist nur um eine geringe Anzahl von Zellen handelt, kann durch diese Konzentrierung eine weitere Praeparation und Untersuchung erleichtert werden. Um eine Austrocknung bei der Immunfluoreszenz zu vermeiden, müssen diese Praeparate sofort in einer feuchten Kammer aufbewahrt werden.

3.2.4. Gewinnung von Seren

Vor der Behandlung und zu den jeweiligen Einbestellungsterminen wurde den Patienten jeweils 10 ml Nativblut entnommen. Die Serumgewinnung erfolgt durch Abzentrifugation (b) des Blutes bei 3000 Umdrehungen pro Minute und 10 Min. Laufzeit. Das Serum wird in Reagenzröhrchen abpipettiert und bei -20° C zur späteren Verwendung konserviert.

---

a) Cytozentrifuge Cytospin Fa. Shandon-Southern

b) Rotanda K Zentrifuge Fa. Hettich

3.3. Aufbereitung des Tumorpraeparates

3.3.1. Einzelzellgewinnung (Abb. 7)

Das Operationspraeparat und die Probeexcision werden gleich behandelt, lediglich bei der Probeexcision werden entsprechend kleinere Mengen von Lösungsmittel verwendet, da es sich um eine kleinere Zellmenge handelt. Das bei + 4° C aufbewahrte Tumorpraeparat wird in eine Petrischale gelegt und je nach Tumorgröße 5-7 ml Hank´sche Lösung hinzugegeben. Mit einem Skalpell wird das Gewebestückchen mechanisch weitgehend zerkleinert. Um eine möglichst hohe Zahl an Einzelzellen zu erhalten, werden die Restgewebestückchen vorsichtig durch ein engmaschiges Sieb gerieben und in Hank´scher Lösung aufgeschwemmt. Mittels einer Pasteurpipette werden die Zellen abgehoben und in Reagenzröhrchen gesammelt.

Zur Trennung von Tumorzellen und noch vorhandenen Lymphocyten aus dem Tonsillenpraeparat wird die Suspension vorsichtig über einen Ficollgradient geschichtet (3 ml Ficoll werden in ein Reagenzröhrchen gegeben und 6 ml Suspension mit einer Pasteurpipette auf die Ficollschicht gelegt). Durch anschließende Zentrifugation bei 2000 U/min und 20 min. Laufzeit sinken die Tumorzellen und evtl. noch vorhandene Plattenepithelzellen auf Grund ihrer Dichte durch das Ficoll hindurch zu Boden und bilden das Pellet. Da die Lymphocyten eine geringere Dichte aufweisen bleiben sie über dem Ficoll als weißlich trüber Ring sichtbar zurück.

Die Lymphocyten werden mittels einer Pasteurpipette abgehoben und erneut in Hank´scher Lösung resuspendiert. Die Restflüssigkeit, bestehend aus Hank´scher Lösung und Ficoll, wird durch Abkippen entfernt, sodaß nur noch die zu Boden gesunkenen Tumorzellen und Platten epithelien zurückbleiben. Zur weiteren Reinigung werden sowohl die Lymphocytensuspension als auch das Pellet dreimal in Hank´scher Lösung gewaschen.

3.3.2. Waschvorgang

Die rohe Zellsuspension wird in einem Reagenzröhrchen mit Hank´-scher Lösung aufgefüllt und mit einer Pasteurpipette gut aufgewirbelt. Durch anschließende Zentrifugation bei 1200 U/min und 5 min Laufzeit setzen sich die Zellen als Pellet ab, während die in der Suspension vorhandenen Zellpartikel im Überstand zurückbleiben und abgeschüttet werden können. Durch Zugabe von 1-2 ml Hank´scher Lösung werden die am Boden befindlichen Zellen wieder in Suspension gebracht und je nach dem verwendeten Material für einen weiteren Waschvorgang oder für die Testdurchführung bereitgehalten.

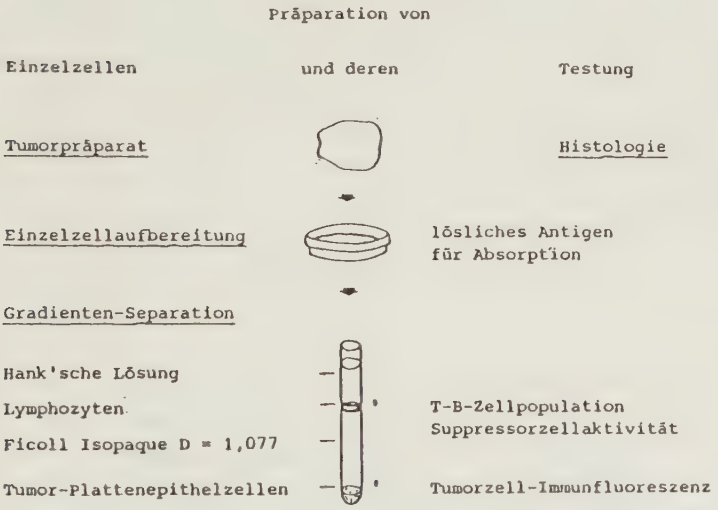


Abb. 7.: Schematische Darstellung der Aufbereitung des Tumorpraeparates: Mechanische Zerkleinerung des Praeparates zur Einzelzellgewinnung mit anschließender Gradientenseparation über Ficoll Isopaque. Im rechten Teil sind die verwendeten Tests während der einzelnen Aufbereitungsstufen aufgetragen.

3.3.3. Einstellung der Zellzahl; Testung auf Viabilität

Nach dem letzten Waschvorgang werden die als Pellet abgesetzten Zellen in 2 ml Hank´scher Lösung suspendiert. In der Leucocytenpipette werden 0,1 ml der Suspension aufgenommen und die Pipette mit 3 %iger Essigsäure auf 1 ml aufgefüllt. In einer Neubauerzählkammer werden die Zellen ausgezählt und anschließend auf 10^6 Zellen pro ml eingestellt.

Zur Bestimmung der noch lebensfähigen Zellen wird ein Tropfen der Zellsuspension auf einen Objektträger aufgetragen und mit einem Tropfen Trypanblau-Lösung (a) vermischt. Die noch lebenden Zellen eliminieren auf Grund ihrer intakten Membranfunktion das Trypanblau. Die abgestorbenen Zellen sind hingegen dazu nicht mehr in der Lage und nehmen den Farbstoff auf, wodurch sie eine Blaufärbung annehmen. Unter dem Mikroskop werden 200 Zellen ausgezählt und der Prozentsatz der noch lebenden Zellen bestimmt. Dabei ergaben sich durchschnittlich 90 % lebende Zellen.

a) Trypanblau - Standard, Fluka AG, Buchs SG, Schweiz
Pulver mit Aqua"dest zweiprozentig verdünnen, vor Gebrauch nochmals mit Kochsalz 1 : 1 verdünnen und abzentrifugieren (1200 U/min, 5 min).

3.4. Immunfluoreszenz

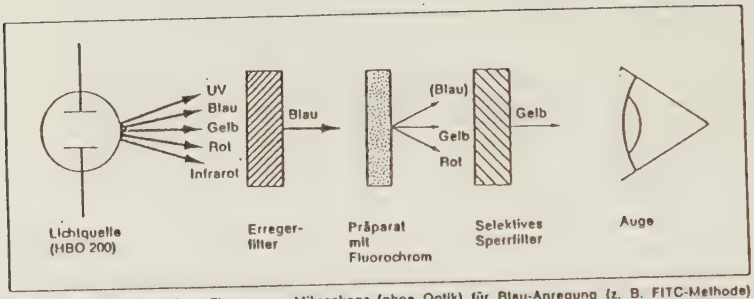
3.4.1. Fluoreszenzmikroskop

Dem Fluoreszenzmikroskop liegt eine einfache Anordnung von Lichtquelle und Filtersystemen zugrunde (Abb. 8). Von einer Quecksilberleuchte geht kurzwelliges Erregerlicht aus.

Der erste Filter erlaubt nur dem gewünschten Erregerlicht den Durchtritt, während die übrigen Lichtanteile absorbiert werden. Trifft das Erregerlicht auf die fluoreszenzfähigen Moleküle, so werden diese angeregt und strahlen nun Fluoreszenzlicht ab. Im Sperrfilter wird das ankommende Erregerlicht absorbiert und nur das Fluoreszenzlicht tritt durch den Sperrfilter hindurch und gelangt zur Beobachtung.

Als Beleuchtungsquelle diente eine 12 Volt und 100 Watt Quecksilberlam Zur Absorption wurde ein Rotfilter 38 Bg und ein Kurzpaßfilter Kp 500 verwendet. Das Dunkelfeld wurde mit einem Ölinversionskondensor erzeugt. Abgelesen wurde mit einer 40 fachen Vergrößerung mit einem Neofluar 40, 0,75 160/0,17 bzw. mit einem Planneofluar 25 0,8 W-Öl.

Dadurch ergibt sich ein schwarzer Hintergrund, während sich die Zellen selbst in hellem Rot darstellen. Die Fluoreszenz, hervorgerufen durch die Lichtanregung des FITC, leuchtet punktförmig apfelgrün auf. Als in der Fluoreszenz positiv gelten Zellen, die mindestens 3 spezifische Fluoreszenzpunkte aufweisen. Ausgezählt werden 200 Zellen und der Prozentsatz der in der Fluoreszenz positiven Zellen bestimmt.



Schematischer Aufbau eines Fluoreszenz-Mikroskops (ohne Optik) für Blau-Anregung (z. B. FITC-Methode)

Abb. 8.: Einfache Anordnung zur Beobachtung der Fluoreszenz von Flüssigkeiten

3.4.2. Quantitative Immunfluoreszenz der Tumorzellen

Zur Immunfluoreszenz werden in der Tumorzellsuspension die Zellen auf 10^6 Zellen pro ml mit Hank´scher Lösung eingestellt. Je 10^6 Zellen werden in Reagenzröhrchen pipettiert. Da Antigene auf den Tumorzellen bzw. Antikörper in den Seren nachgewiesen werden sollen, werden von folgendem Material je 2 Tropfen hinzupipettiert je nach Bestimmung (Tab. 1):

I. NaCl: Die Inkubation mit NaCl bestimmt als erste Kontrolle den Leerwert der Fluoreszenz

II. Serum gesunder Personen:
Dieses Serum wird ebenfalls als Kontrolle benutzt. Zu dieser Gruppe werden jene Personen gerechnet, bei denen weder ein Tumor bekannt ist, noch ein Verdacht auf einen Tumor besteht. Personen, die zum Zeitpunkt der Blutabnahme einen grippalen Infekt, oder eine andere Erkrankung im Nasopharynxgebiet hatten, wurden ebenfalls ausgeschlossen. Das Alter dieser Kontrollgruppe betrug zwischen 30 und 50 Jahren.

III. Autologes Serum:
Durch Gewinnung des Serums der Patienten vor der Tumorbehandlung können die im Blut zirkulierenden Antikörper erfaßt werden. Durch Inkubation des Serums mit dem Tumor desselben Patienten werden tumorspezifische Antikörper nachgewiesen, die als induvidualspezifisch bezeichnet werden können.

IV. Allogenes Serum:
In diese Gruppe werden alle Personen gerechnet, die ebenfalls an einen Tonsillencarcinom erkrankten. Das Serum wurde ebenfalls vor der Behandlung der Tumorpatienten gewonnen. Durch Zugabe dieser Seren sollen gruppenspezifische Antikörper gegen das Tonsillencarcinom nachgewiesen werden.

V. Allogenes Serum anderer Tumorpatienten:

Diese Gruppe umfaßt Patienten mit Carcinomen der Blase und der Niere. Die Serumgewinnung erfolgte vor der Behandlung des Carcinoms. Durch Inkubation von Tonsillencarcinomzellen mit diesen Seren sollen kreuzreagierende Antikörper nachgewiesen werden und eine antigene Verwandtschaft ausgeschlossen werden.

Tumorzellen	Seren	Antikörper
Tons-Ca	NaCl	Leerwert
" "	gesund	Kontrolle
" "	autolog	individualspezifische AK
" "	allogen (Tons-Ca)	gruppenspezifische AK
" "	allogen (Blasen-Ca)	kreuzreagierende AK
" "	allogen (Nieren-Ca)	kreuzreagierende AK

Tab. 1. : Immunfluoreszenztest: Verwendete Zellen (Spalte 1), inkubierte Seren (Spalte 2) Testziel (Spalte 3)

Alle verwendeten Seren werden mit NaCl im Verhältnis 1 : 10 verdünnt Die Inkubation erfolgt 30 min bei 20° C. Nach zweimaligem Waschen bleiben nur die spezifisch an Zellen gebundenen Antikörper zurück. Mit FITC markiertes Antihumanglobulin (a) von Kaninchen wird im Überschuß in Form von 2 Tropfen einer 1:8 mit NaCl verdünnten Lösung zugegeben. Je nach der spezifischen Affinität des Immunglobulins reagiert dieses mit den auf den Tumorzellen haftenden Antikörpern. Diese können von den verschiedenen Immunglobulinarten IgG, IgA, IgM oder nur ein Ak-Fragment F $(ab)_2$ sein. Auch diese Inkubation erfolgt bei Zimmertemperatur über 30 min bei 20 ° C (Abb. 10, 11)

---

a) FITC (Fluoreszinisothiocyanit)-Antihuman Ig Behringwerke
F $(ab)_2$ Fa. Nordic

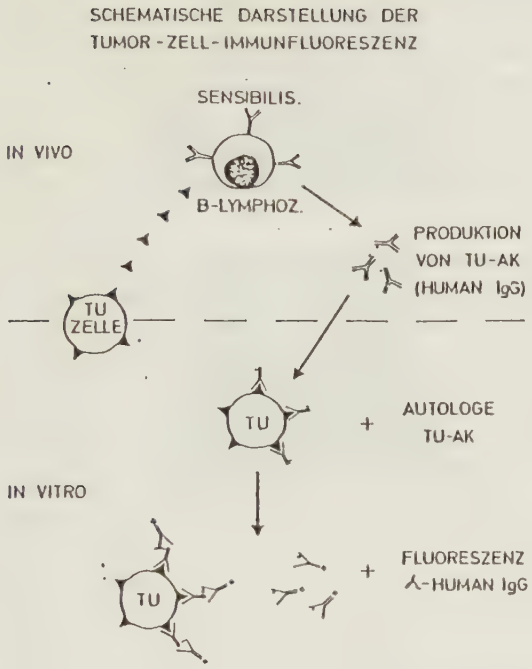


Abb. 10.: Schematische Darstellung der Tumor-Zell-Immunfluoreszenz
Ausprägung von Antigenen auf den Tumorzellen. Der Kontakt von Antigen und B-Zellen führt zur Sensibilisierung. Nach der Umwandlung in Plasmazellen werden Anti-Tumor-Antikörper produziert und in das Serum abgegeben.
Bei Inkubation von Tumorzellen und Serum erfolgt die Antigen-Antikörperreaktion. Der Nachweis dieser Reaktion auf den Tumorzellen erfolgt mit AntihumanIgG (FITC-markiert).

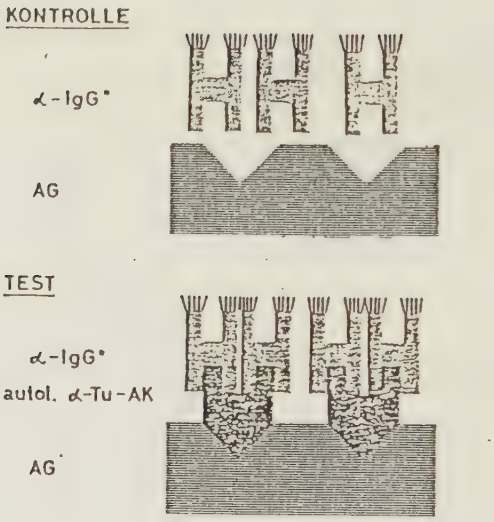


Abb. 11: Indirekter Immunfluoreszenztest

anti-IgG: Antihuman-Immunglobulin G von Kaninchen (FITC markier
AG: Tumorantigen
autol.anti-Tu-AK: autologe gegen den Tumor gerichtete Antikörper aus dem Serum des Patienten
Kontrolle: negative Reaktion, da kein Antikörper vorhanden ist.
Test: positive Reaktion durch Anwesenheit von spezifischem Antikörper.

Nach dreimaligem Waschen mit Hank´scher Lösung werden die aufgeschüttelten Zellen der Pellets auf den Objektträger pipettiert und mit Deckgläser (24 x 24 mm) abgedeckt. Unter dem Fluoreszenzmikroskop werden 200 Zellen ausgezählt und daraus die immunfluoreszenz-positiven Zellen bestimmt und als Prozentsatz angegeben.

3.4.3. Spezifität der IgG-Antikörper

Zum Nachweis der Spezifität der IgG-Antitumor-Antikörper führten wir mit Tumorzellen und Seren der Patienten Absorptionsstudien durch. Die Aufbereitung von Tumorzellen und Seren erfolgte in der oben beschriebenen Weise. Anstelle der Inkubation mit den zu untersuchenden Tumorzellen wurden die autologen und allogenen Seren 30 min mit anderen allogenen Tumorzellen inkubiert. Anschließend wurde bei 1200 U/min abzentrifugiert. Dadurch setzten sich die Tumorzellen mit den spezifisch gebundenen Antikörpern als Pellet ab, während evtl. nicht spezifische Antikörper im Überstand zurückblieben. Dieser Überstand wurde vorsichtig abgenommen und 3 mal mit Hank´scher Lösung gewaschen. Anschließend erfolgte die Inkubation zur Immunfluoreszenz mit den zu untersuchenden Tumorzellen in üblicher Weise. Spezifisch gegen diesen Tumor gerichtete Antikörper, die durch allogene Tumorzellen nicht absorbiert werden, können nun nachgewiesen werden.

3.4.4. Quantitative Immunfluoreszenz der Mundabstriche

Ebenso wie die Tumorzellen werden die Mundabstriche behandelt. Hier werden sowohl die Seren als auch das Antihuman IgG vorsichtig mit einer Pipette auf das Zellfeld aus der Cytozentrifuge aufgetragen, um ein Abschwemmen der auf dem Objektträger nur wenig haftenden Zellen zu vermeiden. Anstatt der oben beschriebenen Waschvorgänge werden die Zellen tropfenweise mittels Hank´scher Lösung

gewaschen, die mit einer Wasserstrahlpumpe vorsichtig wieder abgezogen werden kann. Zum Schutz vor Austrocknung und zur Erhaltung der Membranfluoreszenz auf intakten Zellen wird vor Aufbringen des Deckglases auf die Zellen ein Glycerin-NaCl-Gemisch (1 : 1) getropft. Die Ablesung erfolgt sofort unter dem Fluoreszenzmikroskop in der gleichen Weise wie bei den Tumorzellen beschrieben.

3.5. T-Zellbestimmung mittels Rosettentechnik

Dreimal gewaschene Lymphocyten werden gezählt und auf 10^6 Zellen/ml eingestellt. Schaferythrocyten (a) (nicht älter als 1 Woche) werden ebenfalls in PBS (b) dreimal bei 2800 U/min und 5 min Laufzeit gewaschen. Anschließend werden 10^5 Lymphocyten mit 10^7 Schaferythrocyten gemischt. Es erfolgt eine Inkubation von 30 min. bei 37° C. Anschließend wird der bisher abgesetzte Bodensatz leicht aufgeschüttelt und die "spontanen" T-Zellen bestimmt.

Nach einer erneuten Zentrifugation bei 1200 U/min und 5 min Laufzeit wird für mindestens 4 Stunden bei 4° C inkubiert. Nach vorsichtigem Aufschütteln wird die Gesamt-T-Zellzahl bestimmt.

Ein Tropfen der Zellsuspension wird auf einen Objektträger gegeben und im Lichtmikroskop (Vergrößerung 40) ausgezählt.

Ausgezählt werden 200 Zellen und der Prozentsatz rosettenbildender Lymphocyten bestimmt. Als Rosette gelten jene Zellanordnungen, bei denen sich mindestens 3 Schaferythrocyten um einen Lymphocyten ringförmig anlagern. Als Grund für die Anlagerung gelten Rezeptoren der menschlichen Lymphocyten für Schaferythrocyten.

---

a) Landesuntersuchungsanstalt Schleißheim

b) Phosphatgepuffertes NaCl

3.6. B-Zellbestimmung

Da B-Zellen Antikörper produzieren und diese auch auf ihrer Oberfläche tragen, wurden die B-Zellen durch den Nachweis dieser Antikörper mittels der direkten Immunfluoreszenz bestimmt. Dreimal gewaschene Lymphocyten aus dem peripheren Blut, aus der Tonsille oder aus den Lymphknoten werden auf 10^6 Zellen pro ml eingestellt und 0,1 ml Zellsuspension in ein Reagenzröhrchen (Plastikröhrchen Ø 7 mm) gegeben. Hinzupipettiert wird 1 Tropfen FITC-markiertes Antihuman-Immunglobulin von Kaninchen bzw. Antikörper gegen alle gewünschten Immunglobulinklassen. Dieses Immunglobulin reagiert spezifisch mit den auf den B-Zellen sich befindenden Antikörpern. Durch Antihumanglobuline, die speziell gegen menschliches Immunglobulin der Klassen IgG, IgM, IgA oder gegen einen Teil des Immunglobulinmoleküls $F(ab)_2$ gerichtet sind, können jene B-Zellen dargestellt werden, die entsprechende Immunglobuline auf ihrer Oberfläche tragen.

Diese Mischung von Zellen und Antikörpern wird 30 min bei 20° C inkubiert. Durch dreimaliges Waschen wird nicht gebundenes Immunglobulin wieder entfernt. Spezifisch an die Antikörper der B-Zellen gebundenes FITC-markiertes Immunglobulin bleibt haften und läßt die Zellen fluoreszieren. Diese Zellen werden auf einen Objektträger aufgetragen, mit einem Deckglas abgedeckt und im Fluoreszenzmikroskop abgelesen. Die Bestimmung der positiven Zellen erfolgt in gleicher Weise wie die Ablesung der Immunfluoreszenz der Tumorzellen. Positiv bzw. B-Zellen sind jene Zellen, die mindestens 3 Fluoreszenzpunkte aufweisen. Aus 200 Zellen wird der Prozentsatz der positiven Zellen als B-Zellen angegeben.

3.7. Messung der Suppressoraktivität

Über Ficoll separierte Lymphocyten werden mit Waschmedium (a) dreimal gewaschen und mit Kulturmedium (b) auf 10^6 Zellen/ml eingestellt. Sowohl Zellgewinnung als auch alle weiteren Testvorgänge werden steril unter einem Laminar-airflow (c) durchgeführt.

3.7.1. Generation aktivierter und spontaner Suppressorzellen

Die Lymphocyten werden in 2 Suspensionen gleichmäßig aufgeteilt. Einer Suspension wird das T-Zellmitogen Concanavalin A hinzupipettiert (0,1 ml Con A (d) pro 10^6 Zellen = 1 ml), in der Annahme daß durch dieses Mitogen praeexistente Suppressorzellen "aktiviert" werden. Die zweite Lymphocytensuspension bleibt ohne Mitogenzusatz, sodaß sich in dieser Suspension nur die "spontanen" Suppressorzellen bilden. Beide Suspensionen werden über 48 Stunden bei 37° C und unter 5 %iger CO_2 Spannung inkubiert. Danach wird durch einen dreifachen Waschvorgang das vorher zugesetzte Con A wieder entfernt und die Zellen erneut auf 10^6 Zellen/ml mit Kulturmedium eingestellt.

3.7.2. Messung der Suppressoraktivität

In diesem Testansatz soll bestimmt werden, inwieweit Suppressorzellen die Proliferationsfähigkeit anderer Lymphocyten, die durch ein Mitogen oder ein anderes allogenes Antigen (allogene Lymphocyten) stimuliert wurden, unterdrücken können.

---

a) RPMI 1640 1 l Aqua dest. + 1 ml HCl (1 normal), 1,3 ml $NaHCO_3$, 8,4 %
1 ml Antimykotikum/Antimykotikum (Ciba Co)

Sterilisation mit Seitzfilter unter 1,2 atü

b) 90 ml Waschmedium + 10 ml Poolplasma (Rehatuin F.S.) Fa. Reheis chem. comp.

c) Laminar airflow Fa. Holten

c) Con A: Concanavalin A Fa. Carl Roth, 2 mg in 10 ml Aqua dest.
Testverdünnung 1:5 mit NaCl

Aus dem Blut zweiter Normalpersonen werden die Lymphocyten steril durch Ficollseparation gewonnen, dreimal gewaschen und mit Kulturmedium auf 10^6 Zellen/ml eingestellt. Die Suppressorzellen werden mit 1200 rad (Gamma-Strahlen aus einer Caesiumquelle) bestrahlt. Damit wird jede weitere Proliferation dieser Zellen gehemmt, während die suppressive Aktivität erhalten bleibt. Der Test wird in Mikrotiterplatten (a) mit 8 x 12 Testlöchern durchgeführt. Jeder Suppressionstest wird in einem Dreifachansatz bestimmt. Die Menge der zugegebenen Lymphocyten bleibt mit 10^5 Lymphocyten (= 0,1 ml Suspension) pro Person und pro einzelnen Testansatz im gesamten Test konstant.

3.7.2.1. Suppression der Mitogenstimulation

Zur Kontrolle wurden 2 x 10^5 Lymphocyten einer Normalperson (Ly A) pro Testloch titriert, wovon 1 x 10^5 Lymphocyten bestrahlt waren. Im Testansatz erfolgt die Titration von unbestrahlten 1 x 10^5 Lymphocyten derselben Normalperson (Ly A). Zur Bestimmung der suppressiven Aktivität der Patientenlymphocyten werden die, wie oben angegeben, bestrahlten Suppressorzellen in einer Menge von 1 x 10^5 Lymphocyten/ml hinzutitriert. Durch Zusatz des Zellmitogens (PHA (b) 0,01 ml) wird eine Stimulation der Lymphocyten Ly A sowohl in der Kontrollgruppe als auch im Testansatz angeregt.
Im Testansatz werden Suppressorzellen die durch die Mitogenstimulation hervorgerufene Proliferationstendenz der Normallymphocyten Ly A supprimiert. Die Kontrollgruppe dagegeben ergibt normale Mitogeninduzierte Proliferation, unbeeinflußt von Suppressorzellen.

3.7.2.2. Suppression der gemischten Lymphocytencultur (MLC = mixed lymphocytes culture)

Die MLC erfolgt auf derselben Basis der Zellinteraktionen wie die Mitogenstimulationen. Für Kontrolle und Test werden 1 x 10^5 Normal-

---

a) Fa. Nundon Nunc-Intermed

b) PHA: Phytohämagglutinin Fa. Wellcome Testverdünnung 1 : 10 mit NaCl

lymphocyten Ly A pro Testloch titriert. Zur Stimulation dieser Lymphocyten werden je Testloch sowohl in der Kontrolle als auch für den Testansatz 1 x 10^5 Lymphocyten einer zweiten Normalperson (Ly B) zugesetzt. Diese Lymphocyten wurden mit 1200 rad bestrahlt. Dadurch wurde ihnen jede Proliferationstendenz genommen, sodaß sie nur noch antigenes Material darstellen, das als solches die unbestrahlten Lymphocyten der Normalpersonen zur Proliferation anregt. Für den Test werden von den Patienten 1 x 10^5 Lymphocyten die den Suppressorzellen Ts o bzw Ts + entsprechen, hinzutitriert. Durch Zusatz der Suppressorzellen ergibt sich gegenüber der Kontrollgruppe eine Verminderung der Proliferation der Normallymphocyten Ly A, die einen Effekt der suppressiven Aktivität der Patientenlymphocyten darstellt (Tab. 2).

Unter Berücksichtigung der Dreifachbestimmung und der Verwendung von spontanen (spont.) und aktivierten (akt.) Suppressorzellen ergibt sich folgender Testansatz in schematischer Darstellung:

Tab. 2: Suppression der Mitogenstimulation und der MLC

I) Mitogenstimulation

	unbestrahlt	bestrahlt	Mitogen
Kontrolle	Ly A	Ly A	PHA 0,01 ml
Test	Ly A	TS (spont)	PHA 0,01 ml
	Ly A	Ts (akt)	PHA 0,01 ml

II. M L C

	unbestrahlt	bestrahlt	bestrahlt
Kontrolle	Ly A	----	Ly B
Test	Ly A	Ts (spont)	Ly B
	Ly A	Ts (akt)	Ly B

Ly A : Lymphocyten einer Normalperson. (10^5/ ml)
Ly B : Lymphocyten einer zweiten Normalperson (10^5/ ml)
Ts (spont): spontane Suppressorzellen (10^5/ ml)
Ts (akt) : mit Con A aktivierte Suppressorzellen (10^5/ ml)
PHA : Phytohämagglutinin

Beide Testansätze sowohl die Mitogenstimulation als auch die MLC werden in einem Brutschrank bei 37° C und 5 %iger CO_2-Spannung bei gesättigtem H_2O-Dampf inkubiert. Für die Mitogenansätze beträgt die Inkubationszeit 3 Tage, für die MLC 5 Tage. Nach dem Ablauf der Inkubationszeit wird jedem Testloch ^{3}H-Thymidin 0,01 ml/Loch (a) hinzupipettiert und unter denselben Bedingungen für weitere 16 Stunden inkubiert. Dieses ^{3}H-Thymidin wird während der Inkubation von den proliferierenden Zellen in die DNS eingebaut und dient als Maß für die Proliferationsgeschwindigkeit der Zellen. Anschließend werden die Zellen durch Einfrieren bei -4° C lysiert und entweder sofort ausgewertet oder in eingefrorenem Zustand für die Auswertung aufbewahrt.

3.7.3. Auswertung

Die Kulturplatten mit den durch Einfrieren lysierten Lymphocyten werden langsam wieder aufgetaut. Mittels einer speziellen Erntemaschine (b) werden die Lymphocytenkerne, die das ^{3}H-Thymidin enthalten, auf Glasfieberfilter übertragen. Diese Filter werden dreimal mit Wasser durchgespült, um nicht an die DNS gebundenes Thymidin und Zellmembranbestandteile zu entfernen. Aus dem Filter wird gleichzeitig ein Kreis von 0,5 cm Durchmesser ausgestanzt, der jeweils das Adsorbat eines einzelnen Testloches der Mikrotiterplatte enthält. Mit einer Pinzette werden die ausgestanzten Plättchen in je ein Plastikröhrchen gegeben und je 2 ml Szintillationsflüßigkeit mit einer Pipettiermaschine hinzupipettiert.

Anschließend erfolgt die quantitative Messung der Radioaktivität der einzelnen Plättchen in einem Beta-Counter. Bestimmt wird die

---

a) ^{3}H-Thymidin Radiochemical Centre Amersham

b) Erntemaschine Mash II

Radioaktivität des in der DNS eingebauten ^{3}H-Thymidin in counts pro minute (cpm). Dadurch zeigt die Höhe der vorhandenen Radioaktivität das jeweilige Ausmaß der Proliferation der Lymphocyten an, bzw. die Suppression der Proliferation.

Der endgültige Wert wird als Mittelwert der Dreifachbestimmung errechnet.

Die Suppressorzellaktivität wird in Prozent der cpm des Patiententests gegenüber den cpm des Kontrollansatzes berechnet und die Differenz auf 100 Prozent bestimmt. Da es sich um eine Suppression gegenüber dem Kontrollwert handelt, wird diese mit einem Minuszeichen angegeben, während bei einer Stimulation gegenüber dem Kontrollwert ein Pluszeichen angegeben wird.

$$\text{Suppressoraktivität (\%)} = -\left(100\ \% - \frac{\text{Patiententest (cpm)}}{\text{Kontrolle (cpm)}}\right)$$

4. Ergebnisse

4.1. Das Tonsillencarcinom

4.1.1. Ätiologie, Alter-Geschlechtsverteilung (Abb. 12)

Während des Beabachtungszeitraumes von 2 Jahren konnten 56 Patienten mit einem Tonsillencarcinom erfaßt werden. Der Einzugsbereich des Klinikums Großhadern umfaßte bei den Tonsillencarcinompatienten den Raum Südostbayern.

Als Hauptbeschwerden und Erstsymptom für den Arztbesuch werden bei unseren Patienten vor allem Schwellung am Hals, Schluckbeschwerden oder ein unbestimmtes Kloßgefühl im Hals gefunden. In seltenen Fällen wurde auch Hämoptoe angegeben. Bei ungefähr 20 % trat bei der Diagnosestellung keine klinische Symptomatik auf, sondern die Verdachtsdiagnose des Tonsillencarcinoms wurde von Ärzten im Rahmen allgemeiner regelmäßiger Untersuchungen gestellt.

Die Geschlechtsverteilung weist mit männlich zu weiblich von 3 : 1 ein deutliches Übergewicht bei männlichen Patienten auf. In der Anamnese unserer Patienten findet sich vor allem Genuß von hochprozentigen Alkoholika, ebenso wird starkes Rauchen gehäuft angegeben. Entsprechend dem sozialen Status wird häufig eine schlechte Mundpflege beobachtet die ebenfalls zu den disponierenden Faktoren gerechnet werden muß. Ob evtl. hormonelle Faktoren eine Rolle spielen, wurde nicht nachgewiesen.

In Bezug auf das Alter der Patienten zeigt das Tonsillencarcinom sein gehäuftes Auftreten in den späteren Lebensjahren.Es tritt fast ausschließlich nach dem 40 Lebensjahr auf. Zwischen dem 40. und 70. Lebensjahr verteilt es sich dann auf alle Altersstufen in relativ gleicher Häufigkeit.

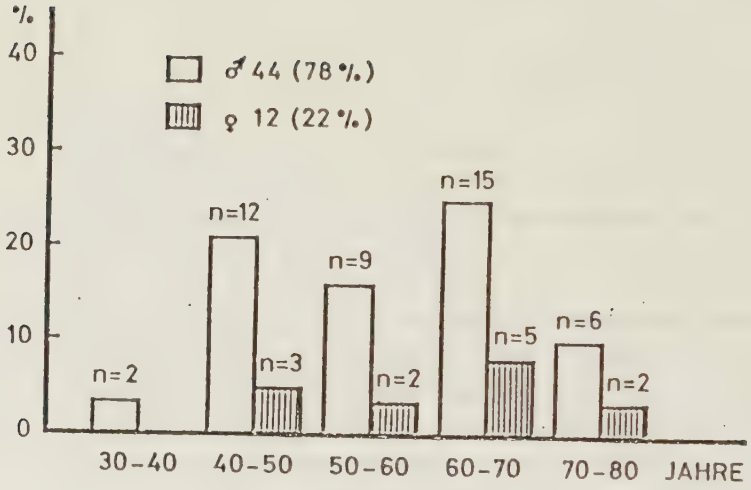


Abb. 12.: Altersverteilung bei Tonsillencarcinompatienten
Zahl der Patienten (n = 56); Ordinate: Prozent an der Gesamtpatientenzahl;
Abszisse: Alter der Patienten zusammengefaßt in 10-Jahresgruppen.

4.1.2. Behandlungsarten bei unseren Tonsillencarcinom-patienten

Je nach Ausdehnung des Tumors, der Operabilität und Konstitution der Patienten wurden folgende Behandlungsarten durchgeführt.
Die Operation mit folgender Nachbestrahlung wurde in 66% der Patienten durchgeführt. Als Operation wurde eine enorale Tumortonsillektomie bei einem Tumor mit der Ausdehnung T1 gewählt. Eine mono-bloc-Resektion wurde bei T2 Tumoren bzw. auch bei noch operablen T3 Tumoren vorgenommen. In allen Fällen wurde gleichzeitig eine Neck-dissektion durchgeführt, d.h. eine Lymphknotenausräumung am seitlichen Halsdreieck, die auch eine Resektion des M. sternocleidomastoideus und der Vena jugularis interna et externa beinhaltet. Das Bestrahlungsfeld in der Nachbestrahlung umfaßt ebenfalls die Regionen des Lymphabflusses am seitlichen Halsdreieck. Die Gesamtdosis der Bestrahlung war 5 000 bis maximal 6 000 rad.

In 23% wurde eine primäre Radiatio mit einer Dosis von insgesamt 6 000 rad durchgeführt. Sie erfolgte nur bei Inoperabilität, sei es auf Grund der Verfassung des Patienten oder einer relativ großen Tumorausdehnung, die eine Totalentfernung des Tumors nicht mehr zu erwarten ließ. Eine weitere Indikation zur Bestrahlung stellte außerdem die Verweigerung der Operation von seiten des Patienten dar.

In 11% wurde eine cytostatische Therapie nach dem Bitterschema durchgeführt. Über eine Zeit von 30 Tagen wurden in 3 Cyclen Methotrexat, Leukoverin und Bleomycin gegeben. Außerdem wurde bei diesen Patienten vorher eine Operation in Form einer "neck-dissection" und eine Nachbestrahlung durchgeführt.

4.1.3. Einteilung der Patienten nach ihrer Tumorausdehnung (Abb. 13, 14)

4.1.3.1. Lymphknotenmetastasierung

Insgesamt wiesen bei der Diagnosestellung nur 13 Patienten oder 23 % noch keine Lymphknotenmetastasierung auf. Die Tumorausdehnung im lokalen Bereich war innerhalb dieser Gruppe gleichmäßig zwischen geringer (T 1) und weitreichender Ausdehnung (T 3).

77 % aller Patienten wiesen aber bereits bei der Diagnosestellung eine Metastasierung ihres Tumors auf. In dieser Gruppe hatten 43 % der Patienten bewegliche homolaterale regionale Lymphknoten (N 2) Bei 8 % waren die Lymphknoten durch die Metastasierung des Tumors bereits an die Umgebung fixiert (N 3).

4.1.3.2. Lokale Ausdehnung des Tumors

In Hinsicht auf die Tumorgröße mußte festgestellt werden, daß die Patienten relativ spät zur Erstuntersuchung kommen. So bilden die Patienten, bei denen der Tumor noch auf einen Bezirk, in diesem Fall die Tonsille, beschränkt ist mit 9 % die kleinste Gruppe (T 1). Bei 32 % war der Tumor bereits über die Tonsille hinausgewachsen, beschränkte sich aber noch auf 2 Bezirke (T 2). Die größte Gruppe bildeten jene Patienten, deren Tumor schon über den Oropharynx hinausgewachsen ist. Sie umfaßte 59 % der Tumorpatienten. Bei der Diagnosestellung befand sich unter den Patienten keiner, bei dem bereits eine Fernmetastasierung stattgefunden hatte.

	N0	N1	N2	N3	
T1	n= 3	—	n= 1	n= 1	9%
T2	n= 5	n= 7	n= 4	n= 2	32%
T3	n= 5	n=17	n= 6	n= 5	59%
	23%	77%			

Abb. 13.: Stadienverteilung bei Patienten mit Tonsillencarcinom
Ordinate: lokale Tumorausdehnung (T_{1-3})
Abszisse: Lymphknotenbeteiligung (N_{0-3})

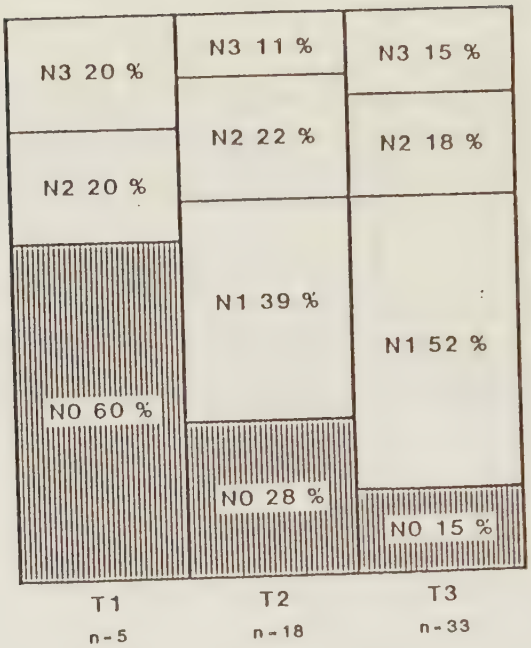


Abb. 14.: Prozentuale Verteilung des Lymphknotenbefalls entsprechend der lokalen Ausdehnung des Tonsillencarcinoms. Parallel der Zunahme der lokalen Tumorausdehnung nimmt der Lymphknotenbefall zu (Abnahme der N_0-Tumoren von 60 % auf 15 %).

4.1.4. Mortalität

Von den 56 Patienten mit Tonsillencarcinom starben bisher im Untersuchungszeitraum 23 % der Patienten. Als Hauptursachen wurden das Auftreten von Tumorrezidiven und Tumorkachexie gefunden. Hinsichtlich des Alters verteilten sich die Todesfälle proportional auf alle Altersgruppen. Die durchschnittliche Überlebenszeit bei den verstorbenen Patienten betrug 11 Monate. Der früheste Todesfall trat bei einem Patienten 1 Monat nach der Therapie ein. Der späteste Todesfall wurde 34 Monate nach der Therapie registriert. Es zeigt sich, daß die höchste Mortalität innerhalb der ersten 12 Monate nach der Therapie liegt, während die Todesrate nach dem 12. Monat deutlich absinkt.

4.1.5. Überlebensrate bei Patienten mit Tonsillencarcinom

In diese statistische Berechnung gingen nur jene von allen 56 Patienten ein, die von Anfang an oder mindestens 28 Monate in unserer Beobachtung standen. Zusätzlich wurden alle jene Patienten für die Berechnung der Überlebenswahrscheinlichkeit miterfaßt, die innerhalb der ersten 28 Monate nach der Diagnosestellung verstarben.

Die Gesamtzahl dieser Patientengruppe umfaßt 33 Personen. Davon verstarben innerhalb dieser 28 Monate 12 Personen, entsprechend einem Prozentsatz von 36 %. Dies bedeutet eine Überlebensrate innerhalb dieser Gruppe von 66 %

4.1.5.1.Einfluß der Tumorausdehnung auf die Überlebensrate (Abb. 15)

Für die Erfassung der Überlebensrate in Bezug auf die Tumorausdehnung wurden die Patienten entsprechend der lokalen Ausdehnung ihres Tumors (T 1, T 2, T 3) zusammengefaßt. Unberücksichtigt blieb in dieser Einteilung die Lymphknotenmetastasierung. Im Rahmen der oben beschriebenen Patienten wurde bei 5 ein Tumor mit geringer Ausdehnung diagnostiziert, der in die T 1 Gruppe eingereiht werden konnte. In dieser Gruppe verstarb während des Beobachtungszeitraumes von 28 Monaten kein Patient. Von den 12 Patienten mit T 2 Tumoren, waren nach 28 Monaten bereits 5 Patienten verstorben, dies entspricht einer Überlebensrate von 60 Prozent. 16 Patienten hatten bei der Diagnosestellung bereits einen T 3 Tumor. Aus dieser Gruppe verstarben während der Beobachtungszeit von 28 Monaten 7 Patienten. Das sind 42 % aller Patienten mit einem T 3 Tumor. Die errechnete Überlebensrate von 58 % entspricht ungefähr der T 2 Gruppe.

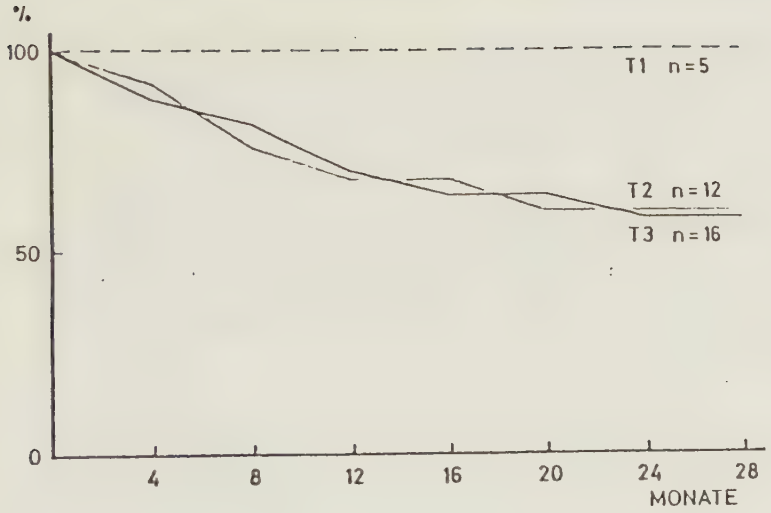


Abb. 15.: Überlebensrate in Abhängigkeit von der Tumorausdehnung bei Tonsillencarcinompatienten
Beobachtungszeit: 28 Monate
Anzahl der Patienten: 33
Starke Abnahme der Überlebensrate in Abhängigkeit von der Tumorausdehnung.

4.1.5.2. Einfluß der Therapieart auf die Überlebensrate (Abb. 16)

Alle Patienten wurden unabhängig von der jeweiligen Tumorausdehnung und Lymphknotenmetastasierung je nach Therapieart eingeteilt. In die statistische Erhebung gingen wiederum jene 33 Patienten der oben beschriebenen Gruppe ein.

Aus dieser Gruppe wurden 10 Patienten mit einer Primärbestrahlung behandelt. Von diesen 10 Patienten waren nach 28 Monaten bereits 4 Patienten verstorben. Damit ergibt sich zu diesem Zeitpunkt eine Überlebensrate von 60 % bei Patienten mit alleiniger Bestrahlungsbehandlung.

Bei 23 Patienten wurde eine operative Behandlung durchgeführt. Im Hinblick auf Tumorausdehnung und den Lymphknotenmetastasen war diese Gruppe mit der der primären Bestrahlungsbehandlung identisch. Von diesen Patienten waren nach 28 Monaten 31 % verstorben. Somit betrug die Überlebensrate nach 28 Monaten 69 %.

Als 3. Behandlungsart wurde die cytostatische Kombinationstherapie durchgeführt. Da sie jedoch erst am Ende dieser Studie begonnen wurde, gingen in die Gruppe der über mindestens 28 Monate beobachteten Patienten kein Patient ein, der mit Cytostatischer Therapie behandelt wurde.

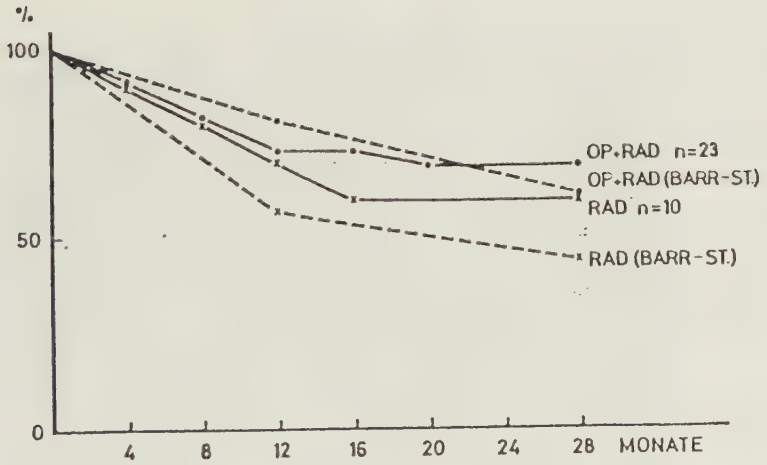


Abb. 16.: Überlebensrate in Abhängigkeit von der Behandlungsart: Überlebensrate von 69 % bei operativer Behandlung; 60 % Überlebensrate bei alleiniger Bestrahlung. Zum Vergleich wurden die Ergebnisse der Barrstudie eingetragen (Barr-St.).

4.2. Immunfluoreszenz

4.2.1. Immunfluoreszenz auf Tumorzellen

Die auf den Oberflächen der Tumorzellen sich befindenden Antigene werden durch autologe Antikörper sowie deren Anti-Antikörper, die mit FITC markiert sind, im Fluoreszenztest nachgewiesen. Die Antikörper sind zum Teil auf der gesamten Zellmembran der Tumorzelle verteilt, und stellen sich in der Fluoreszenz als Ring, der die gesamte Zelle umfaßt, dar. Zum Teil sind aber nur wenige Antigene auf der Zellmembran, die sich dann punktförmig darstellen. Durch aktiven Transport durch die Zelle, können die Antigene an einem Pol der Zelle zusammenfließen. Dies wird als "Capping" bezeichnet. Als in der Flüoreszenz positiv werden jene Zellen bezeichnet, die mindestens 3 Fluoreszenzpunkte aufweisen (Abb. 17, 18).

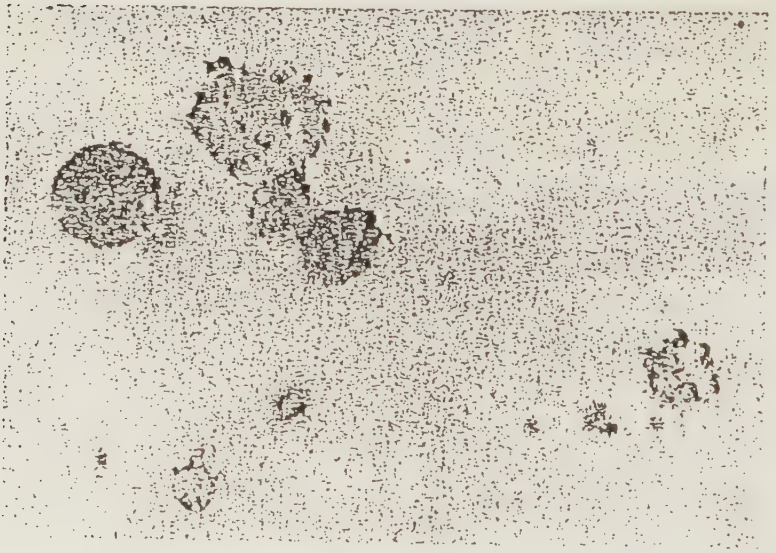


Abb. 17.: Immunfluoreszenz von Tumorzellen (Negativ-Bild)
positive Tumorzellen: Antigene auf der Membran der Zelle
punktförmige Fluoreszenz

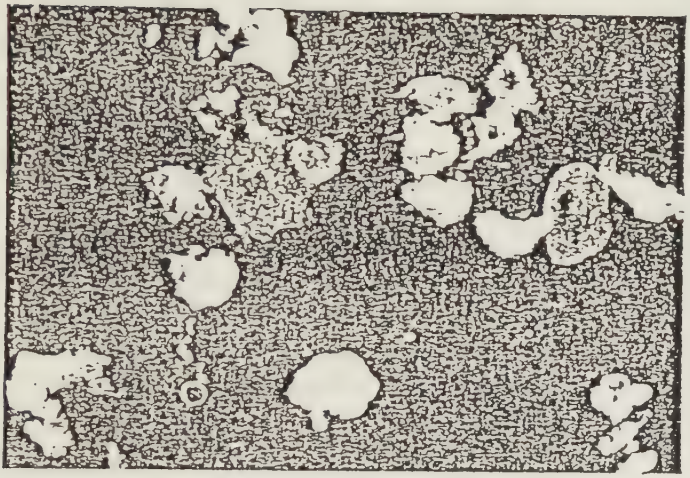


Abb. 18.: Immunfluoreszenz von Tumorzellen

1) normales Plattenepithel ohne Fluoreszenz
2) positive Tumorzellen, Antigene auf gesamter Oberfläche
3) positive Tumorzellen, Antigene an einem Pol = Capping
4) negative Tumorzelle

4.2.2. Immunfluoreszenz bei Tonsillencarcinomzellen

Die Tumorpatienten wurden in 2 Gruppen unterteilt. Die erste Gruppe umfaßt 7 Patienten, die keinen Lymphknotenbefall (No) aufwiesen. Die zweite Gruppe waren 21 Patienten mit bereits befallenen Lymphknoten (N 1-N 3). Unberücksichtigt blieb in dieser Zusammenstellung die lokale Ausdehnung der Tumoren (T-Stadien).

Die Tumorzellen wurden jeweils einmal mit Kochsalz als Leerwertbestimmung und allogenen normalen Seren als Kontrollen inkubiert. Zum anderen erfolgte die Inkubation mit dem autologen Serum und allogenen Seren von Tonsillencarcinompatienten mit unterschiedlicher Tumorprogredienz. Außerdem wurden Seren von Patienten mit Blasen- und Nierencarcinomen verwendet. Zur Feststellung eines signifikanten Unterschiedes wurde ein Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben durchgeführt.

4.2.2.1. Antitumorantikörper der Immunglobulinklasse G (Tab. 3)

Inkubation von Tumorzellen mit Kochsalz ergibt nur sehr niedrige Fluoreszenzwerte. Sie betragen bei No-Tumoren 3 % bei N 1-Tumoren 6 %. Das autologe Serum markiert Tumorzellen signifikant ($p \leq 0{,}05$) stärker und häufiger. 23 % der Tumorzellen aus No-Tumoren und 37 % aus N 1-Tumoren sind positiv. Einen ebenfalls deutlichen Anstieg positiver Zellen gegenüber der Kochsalzkontrolle zeigt die Inkubation mit allogenen Seren von Tonsillencarcinompatienten ($p \leq 0{,}05$). Werden Zellen von No Carcinomen mit allogenen Seren von Patienten mit No-Tumoren inkubiert, so beträgt der Prozentsatz positiver Zellen 17 %; werden dieselben Zellen mit den Seren von Patienten mit N1-Tumoren gemischt, so sind in der Fluoreszenz 30 % der Tumorzellen positiv.

Inkubation der Zellen beider Tumorgruppen (No und N 1) zeigt mit 29 % positiven Zellen in beiden Fällen keinen Unterschied. Durch Inkubation von Tonsillencarcinomzellen mit den Seren von Blasen und Nierencarcinompatienten sollen die Seren auf kreuzreagierende Antikörper, bzw. die Tumorzellen auf kreuzreagierende Antigene untersucht werden. Seren von Blasencarcinompatienten markieren ebenso wie bei Kontrollen nur 4 % der Zellen, wobei die Tests nur für Zellen von N 1-Tumoren durchgeführt wurden. Ähnlich niedrig liegen die Werte bei Seren von Nierencarcinompatienten mit 1 % bei No und 8 % bei N1-Tumoren. Etwa gleich bleiben No und N1-Tumorzellen nach der Inkubation mit Seren gesunder Personen bei 4 - 5 % positiver Zellen.

	Ko	Autol	N 0	N 1	Blase	Niere	Gesund
Mo	VII 3 ± 4	VII 23 ± 11	IV 17 ± 8	XIII 29 ± 13	-	I 1 ± 1	III 4 ± 3
Mo	XXI 6 ± 7	XXI 37 ± 13	XVIII 30 ± 21	LXIII 29 ± 18	III 4 ± 3	I 8 ± 0	VI 5 ± 2
	XIV 2 ± 2	XVII 17 ± 9	VI 14 ± 12	XXI 18 ± 13	I 3 ± 0	II 10 ± 4	V 4 ± 2

. 3.: Indirekte Immunfluoreszenz mit Tonsillencarcinomzellen. FITC-markiertes Antiserum = Antihuman-IgG; Angaben in Prozent positiver Zellen ± Standardabweichungen. Römische Ziffern = n-Zahl. Horizontal sind die im Test dazugegebenen Seren aufgetragen, vertikal die verwendeten Zellen (NoMo, N1Mo = Tumorzellen aus dem Primärtumor der Tonsille aufgeteilt nach Stadien; Lk = Tumorzellen aus den Lymphknotenmetastasen

4.2.2.2. Antitumorantikörper der Immunglobulin-A-Klasse (Tab. 4)

Die Einteilung von Tumorzellen und Seren erfolgte identisch wie bei der Immunglobulin G Klasse. Bei der alleinigen Zugabe von Kochsalz konnte bei den No-Tumoren keine, bei N1-Tumoren mit 2 % nur eine sehr geringe Fluoreszenz nachgewiesen werden. Dagegen erzielte die Inkubation mit autologem Serum sowohl bei den metastasenfreien als auch bei den bereits metastasierten Tumoren mit 10 % einen Anstieg in der Fluoreszenz positiver Zellen. In gleicher Höhe, nämlich 9 % bewegen sich auch solche Tumorzellen, die mit Seren von Patienten mit No bzw. auch N1-Tumoren inkubiert wurden. Demgegenüber sind in den Seren von Blasen- und Nierencarcinompatienten (1 %) keine Antikörper der Immunglobulin-A-Klasse nachweisbar. Nach Inkubation mit Seren gesunder Personen sind 1 % der Tumorzellen in der Fluoreszenz positiv.

4.2.2.3. Antitumorantikörper der Immunglobulin-M-Klasse

Auch hier bewegten sich in der Kochsalzkontrolle die Werte um 1 % positive Zellen. Bei Zugabe von autologem Serum steigt die Immunfluoreszenz bei Zellen aus einem No-Tumor auf 7 % bei Zellen aus einem N1-Tumor auf 6 %. Gleich hoch liegen die Antikörpertiter im autologen Serum. Die allogenen Seren von Patienten mit Tonsillencarcinom markieren in der No und der N1 Gruppe 7 % positive Zellen. Keine IgM Antikörper wurden bei Patienten mit Blasencarcinomen gefunden. Mit Seren von Nierencarcinompatienten sind bei No-Tumoren 3 % bei N1-Tumoren 4 % der Zellen positiv.
Geringe Fluoreszenz (0 bzw. 2 %) zeigen die Tumorzellen nach der Inkubation mit Seren gesunder Personen.

4.2.2.4. Nachweis von $F_{(ab)\,2}$-Fragmenten der Antikörper (Tab. 4)

Mit Kochsalzinkubation sind von No-Tumoren 6 % der Zellen von N 1-Tumoren 7 % positiv. Dagegen waren mit autologem Serum 19 % der Zellen von No-Tumoren positiv, von N 1-Tumoren sogar 25 %. Auf 27 % steigt der Prozentsatz positiver Zellen nach der Inkubation mit allogenen Seren von No-Tumoren. 12 % beträgt er dagegen bei Seren von N 1-Tumoren. Bei gleicher Inkubation von N 1-Tumoren mit Seren von Patienten mit N 1-Tumoren steigt der Prozentsatz positiver Zellen auf 22 %.

Tests mit Seren von Blasen und Nierencarcinompatienten wurden nur bei N 1-Tumoren durchgeführt. Hier waren 4 % bzw. 0 % der Zellen positiv. Seren von gesunden Personen zeigen im Stadium No 6 % fluoreszierende Zellen, im Stadium N 1 4% positive Zellen.

	Ko	Autol	No	N1	Gesund	Blase	Niere
	V	VI	III	X	III		I
No	0 ±0	9 ±4	9 ±4	7 ±3	1 ±3	---	1 ±
g A							
	VII	VIII	VI	VI	III	I	I
N1	2 ±2	10 ±5	9 ±4	10 ±5	2 ±2	1 ±0	2 ±
	V	V	III	IX	III		I
No	1 ±1	7 ±4	5 ±1	7 ±4	0 ±0	---	3 ±
g M							
	VII	VII	IV	V	III	I	I
N1	1 ±1	6 ±6	3 ±4	8 ±5	2 ±2	0 ±0	4 ±
	IV	IV	II	VII	II		
No	6 ±7	19 ±6	27 ±7	12 ±4	6 ±6	---	---
ab)2							
	V	V	III	V	III	I	I
N1	7 ±4	25 ±10	29 ±2	22 ±9	4 ±0	4 ±0	0 ±

ab. 4.: Indirekte Immunfluoreszenz mit Tonsillencarcinomzellen
Vertikal: FITC-markierte Antiseren (Antihuman-IgA, IgM, $F_{(ab)2}$) und die verwendeten Tumorzellen mit Stadieneinteilung (No, N1)

Horizontal: Testseren mit NaCl-Kontrolle (Ko)

Angaben in Prozent positiver Zellen ± Standardabweichungen
Römische Ziffern = n-Zahlen

4.2.3. Immunfluoreszenz an Tumorzellen aus Lymphknotenmetastasen

Diese Aufstellung umfaßt sämtliche Lymphknotenmetastasen ohne Berücksichtigung des Ausmaßes von N 1 bis N 3 oder der lokalen Ausdehnung (T 1 bis T 3) des Primärtumors. Die Einteilung der mit den Tumorzellen inkubierten Seren erfolgt nach demselben Schema wie bei den Tonsillenpraeparaten (Tab. 5)

4.2.3.1. Antitumorantikörper der Immunglobulin-G-Klasse

Die Kochsalzkontrollen zeigen auch bei den Tumorzellen aus Lymphknoten mit 2 % eine sehr geringe Fluoreszenz. Mit autologen Seren steigt die Fluoreszenz auf 17 % an, liegt aber dennoch niedriger als die Vergleichswerte der Tonsillenpraeparate. Nach Inkubation mit allogenen Seren von Tonsillencarcinompatienten mit verschiedenen Tumorstadien liegt der Prozentsatz positiver Zellen in der Höhe des autologen Serums. Bei Zugabe von Seren von Blasencarcinompatienten sind nur 3 %,von Nierencarcinompatienten nur 10 % der Zellen in der Immunfluoreszenz positiv. Nach Inkubation gesunder Seren sind 4 % der Zellen positiv.

4.2.3.2. Antitumor-Antikörper der Immunglobulin-A-Klasse

Eine sehr geringe Zahl fluoreszierender Tumorzellen lassen sich nach Inkubation mit gesunden Seren (2 %) ebenso wie in der Kochsalzkontrolle(0 %) nachweisen. Nur gering steigen die Immunfluoreszenzwerte nach der Inkubation von Blasen- (5 %) und Nierencarcinom-Seren (1 %) an. Nach Zugabe von autologen Seren sind die Tumorzellen zu 7 % positiv. Dagegen wird bei Inkubation von allogenen Seren von No-Tumoren in 20 % die Fluoreszenz der Tumorzellen positiv. Bei allogenen Seren von N 1-Tumoren erreichen die Werte mit 8 % allerdings wieder die Höhe der autologen Immunfluoreszenz.

4.2.3.3. Antitumor-Antikörper der Immunglobulin-M-Klasse

Annähernd gleich sind die IgM Werte bei den Tumorzellen aus den Tonsillen und den Lymphknoten, dies sowohl in der Kochsalzkontrolle (0 %) als auch bei autologen (5 %) und allogenen Seren (5 %). Ähnlich wie die Seren gesunder Probanden (1 %) bewirken auch die Seren von Blasen- (5 %) und Nierencarcinomen (1 %) nur eine geringe Fluoreszenz der Tumorzellen.

4.2.3.4. Nachweis von $F_{(ab)2}$-Fragmenten

In der Kochsalzkontrolle sind 3 % der Tumorzellen positiv. Nach Inkubation mit allogenen Seren liegen sie zwischen 15 bis 22 Prozent, in der Höhe des autologen Serums. Bei Blasencarcinompatienten erreichtder Wert 9 %, bei Nierencarcinompatienten nur 1 %. Nach Zugabe von Seren gesunder Personen tragen 7 % der Tumorzellen aus Lymphknotenpraeparaten eine positive Fluoreszenz.

4.2.3.5. Spezifität der Antikörper (Tab. 6)

Bei der Inkubation mit autologen und allogenen Seren wurden Normalwerte entsprechend der Immunfluoreszenz der IgG-Antikörper gefunden. Wurden dagegen die Antikörper der Seren von allogenen Tumorzellen absorbiert, so verringerte sich der Anteil spezifisch fluoreszierender Tumorzellen.

Nach Absorption von allogenen Seren mit allogenen Tumorzellen erniedrigte sich die spezifische Fluoreszenz von 23 % auf 16 %, dies entspricht einer Absorption von 31 % der IgG Antikörper durch den allogenen Tumor. 82 % der Antikörper wurden bei Inkubation von autologem Serum und allogenen Tumor bei dem Patienten A. W. absorbiert.

	Ko	Autol	No	NI	Blase	Niere	Gesund
IgG	XIV 2 ± 2	XVII 17 ± 9	VI 14 ± 12	XXI 18 ± 13	I 3 ± 0	II 10 ± 4	V 4 ± 2
IgM	XI 0 ± 0	XII 5 ± 3	IV 5 ± 4	XVII 6 ± 4	IV 3 ± 1	I 6 ± 0	V 1 ± 1
IgA	XII 0 ± 1	XIV 7 ± 8	III 20 ± 11	XIIX 8 ± 6	III 5 ± 2	II 1 ± 0	VII 1 ± 3
$F_{(ab)2}$	IX 3 ± 5	XI 18 ± 13	III 22 ± 16	XVI 15 ± 12	III 9 ± 4	I 1 ± 0	V 7 ± 0

Tab. 5 Indirekte Immunfluoreszenz mit Tonsillencarcinom-Zellen aus Lymphknotenmetastasen Angaben in Prozent positiver Zellen ± Standardabweichung.Römische Ziffern entsprechen den n-Zahlen.Vertikal sind die verwendeten Antihumanseren aufgetragen. Horizontal erfolgt die Angabe der dazugegebenen Seren.(Ko = NaCl-Kontrolle; Seren : Autol = autologes Serum ; No ,NI = allogenes Serum von Tonsillencarcinompatienten;Seren anderer (Blase,Niere) Carcinompatienten und gesunder Personen)

Hier sank die spezifische Fluoreszenz von 40 % auf 7 %. Der Patient B. J. wies mit autologem Serum 12 % fluoreszierende Zellen auf. Durch Absorption mit allogenem Tumor zeigten nur noch 4 % der Tumorzellen eine spezifische Fluoreszenz.

Tumor-zellen	autol. Serum	allog. Serum	Serum + allog.Tumor	Absorption in %
B.W.	--	23 (n=4)	16 (n=9)	31 %
A.W.	40	--	7 (n=3)	82 %
B.J.	12	--	4 (n=2)	69 %

Tab. 6.: Absorption von IgG-Antikörpern durch allogene Tumoren
Ordinate: Normalseren (autol., allog.) bzw. Seren nach Absorption; Prozent absorbierter Antikörper
Abszisse: Patientenangabe

4.2.4. Immunfluoreszenz auf Abstrichen aus der vom Tumor befallenen Tonsillenloge (Tab. 7)

4.2.4.1. Gruppeneinteilung der Patienten

Zur Darstellung der Ergebnisse wurden die Patienten in drei Gruppen eingeteilt:

Gruppe 1 (gut): Die erste Gruppe umfaßt alle Patienten, bei denen zur Zeit der Abstrichentnahme kein Verdacht auf ein Rezidiv bestand. Alle diese Patienten befanden sich zu dieser Zeit in einem "guten Allgemeinzustand".

Gruppe 2 (schlecht): In dieser Gruppe befanden sich alle jene Patienten, die zwar klinisch in einem schlechten Allgemeinzustand sich befanden, bei denen aber kein dringender Verdacht auf Tumorrezidiv bestand.

Gruppe 3 (Rezidiv): Bei den Patienten dieser Gruppe bestand vom klinischen Aspekt her der Verdacht auf ein Rezidiv, oder es wurde bereits ein Rezidiv durch eine histologische Untersuchung einer Probeexcision bestätigt.

4.2.4.2. Gruppeneinteilung der Fluoreszenzergebnisse

Spalte 1: In Spalte 1 wurden jene Patienten eingereiht, die keine positive Fluoreszenz aufwiesen.

Spalte 2: Hierin wurden jene Ergebnisse zusammengefaßt, die weder eine negative, noch eine sicher als positiv einzustufende Fluoreszenz aufwiesen, d.h. daß die Abstriche teils entweder sehr stark verschleimt waren, oder sich sehr viele Bakterien und Pilze je nach der Mundhygiene der

Patienten auf den Praeparaten befanden. Diese stellen natürlicherweise antigenes Material dar, oder vermögen freies FITC aufzunehmen und können deshalb eine Fluoreszenz tragen, wodurch sich die Beurteilung der Abstriche erheblich erschwert. Ein großer Teil der Patienten befindet sich aber noch in cytostatischer oder in Strahlenbehandlung, sodaß sehr viele nekrotische Zellen vorhanden sind.

Spalte 3: Als positiv wurden solche Abstriche bewertet, die mindestens 10 % klar tumorverdächtige Zellen, d.h. eine starke spezifische Immunfluoreszenz aufwiesen.

4.2.4.3. Ergebnisse (Abb. 19)

Abstriche mit negativer Fluoreszenz

Während des Untersuchungszeitraumes zeigten 96 Abstriche ein negatives Ergebnis. Die Patienten mit negativen Abstrichergebnis waren zu 88 % zum Zeitpunkt des Abstriches in einem guten Allgemeinzustand. 12 % der Patienten befand sich in einem schlechten Allgemeinzustand. Bei keinem Patienten, die einen negativen Abstrich aufwiesen, bestand gleichzeitig vom klinischen Aspekt her ein Rezidivverdacht.

Abstriche mit fraglicher Fluoreszenz

Insgesamt waren 32 Abstriche weder sicher als negativ, noch sicher als positiv einzuordnen. 40 % der Patienten waren zu diesem Zeitpunkt in einem guten, 48 % in einem schlechten Allgemeinzustand. Bei 12 % mußte bei gleichzeitigem fraglichen Abstrich auch vom klinischen Aspekt her ein Rezidiv des Tumors vermutet werden.

Abstriche mit positiver Fluoreszenz

32 Abstriche ergaben in der Fluoreszenz ein positives Ergebnis. Von diesen Patienten war nur ein Patient noch in einem guten Allgemeinzustand. 28 % der Patienten mit positivem Abstrich befanden sich in einer schlechten körperlichen Verfassung, ohne daß allerdings klinisch ein Verdacht auf ein Rezidiv bestand. In 68 % der Fälle hatten die Patienten ein gesichertes Rezidiv, oder es gab zumindestens einen dringenden Verdacht darauf.

Zur Stärkung der Aussagekraft der fluoreszenz-positiven Abstriche werden die späteren klinischen Verläufe der Patienten dargestellt. In 13 Fällen der 32 positiven Abstriche befanden sich die Patienten noch unter cytostatischer Therapie oder unter Bestrahlungsbehandlung, was bedeutet, daß zu diesem Zeitpunkt noch ein Tumorrest vorhanden war. Diese Patienten zeigten noch während der Behandlung fraglich positive Ergebnisse in der Immuncytologie, oder die Abstriche wurden unter der Therapie wieder negativ.

Bei 12 positiven Abstrichen wurde zu einem späteren Zeitpunkt ein Rezidiv bestätigt. 3 Patienten verstarben unter den deutlichen Zeichen einer Tumorkachexie, ohne daß ein Tumorrezidiv histologisch gesichert werden konnte. Bei einem Patienten wurden die Abstriche unter Therapie wieder negativ, ohne daß eine Rezidivierung des Tumors bisher auftrat. Bei einem Patienten mit positivem Abstrich konnte bisher histologisch kein Rezidiv gesichert werden.

ALLGEMEIN-ZUSTAND	NEGATIV n=96	FRAGLICH n=37	POSITIV n=32
GUT	88 %	40 %	3 %
SCHLECHT	12 %	48 %	28 %
REZIDIV ✝	0 %	12 %	68 %

Abb. 19.: Immuncytologie der Abstriche aus der befallenen Tonsillenloge
vertikal: Allgemeinzustand der Patienten
horizontal: Immuncytologieergebnis
(Einteilung siehe Text)

Datum der Abstrichentnahme

Name	1979 1.	3.	5.	6.	7.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	1980 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
K.K.	+			+		+		+	+									
B.F.	–				/	/		–	/	–	/			–	–			
T.E.	–		–		–		–		/	–	–	–	–	–	–	–	–	
R.H.	–	–	–		–					–				–		–	–	
H.H.	–	+																
M.B.	–	–	–		/	–		–			–	–	–	–	–			
W.M.	–			/	/			–		–	–		–	/		–		
B.M.	–	–		/		–	/	–		–				–		–		
P.F.	–	/	–		–		/						+	–				
D.E.	–					/				–	–	–	–	–				
G.G.	+			+														
S.M.			–		/								–	/				
H.J.		/		+														
F.G.			/		+		+	+		+								
H.I.				–		–	–	/	–	–	–	/						
M.M.			/		+	/	–	+	/	–	–			–		–		
P.G.						/	+											
R.S.							+	+	–	–		/	/		–	–		
A.B.									–									
G.G.											/							
S.T.											+							
K.M.												–	–	–	/	/	+	
J.L.												–						
R.M.													–					
H.I.													–					
F.G.													/	+		+	+	
T.A.														–	/	–	–	
S.J.														+		–	+	+
P.P.														+	+	+	–	
E.V.														–	+	–	/	
R.L.														/		–	–	
R.S.																–		
T.K.																–	+	
S.J.																–	/	/
B.W.																–	–	
K.A.																/	/	
J.J.						/	–	–				–						

Tab. 7.: Immunfluoreszenz von Abstrichzellen aus der befallenen Tonsillenloge. Horizontal: Monat der Abstrichentnahme
Vertikal: Patientenname

4.2.5. Zeitintervall zwischen Erstbehandlung, positivem Abstrich und Tumorrezidiv (Tab. 8)

Bei 4 Patienten wurden die Abstriche in unterschiedlichen Abständen zur Therapie positiv, und blieben auch positiv bis zum späteren Auftreten eines Rezidivs. Der Patient K.K. ♂ wurde am 7.78 an einem Tonsillencarcinom operiert. 11 Monate später trat der erste positive Abstrich auf. Nach 14 Monaten konnte histologisch ein Tumorrezidiv festgestellt werden. Zwischen dem ersten positiven Abstrich und dem Tumorrezidiv waren 4 weitere Abstriche als positiv zu bewerten. Ebenfalls positiv wurde der Abstrich nach 12 Monaten bei J.F.. Bei diesem Patienten trat das Rezidiv bereits nach 4 Monaten auf. Einen ähnlichen Verlauf ihrer Erkrankung wiesen die Patienten P.F. und F.E. auf. Das Rezidiv konnte nach 5 bzw. nach 3 Monaten gesichert werden. Bei allen diesen Patienten trat somit im Abstrich durchschnittlich 14 Monate nach der Behandlung eine positive Fluoreszenz auf. In jedem Fall trat die Fluoreszenz früher auf als das lokale Rezidiv klinisch gesichert werden konnte. Das Abstand zur histologischen Verifizierung betrug im Durchschnitt 6,5 Monate.

Patient	Therapie-beginn (A)	positiver Abstrich (B)	Zwischen-zeit (Mo) (A-B)	Rezidiv (C)	Zwischen-zeit (Mo) (B-C)
K.K.	7.78	6.79	11	8.80	14
F.J.	6.78	7.79	12	11.79	4
P.F.	4.78	1.80	20	6.80	5
F.E.	11.78	3.80	16	6.80	3
d =			14		6,5

Tab. 8.: Zeitlicher Zusammenhang zwischen Therapiebeginn (Datum) und Auftreten des ersten positiven Abstrichs, sowie dem Zeitpunkt des Rezidives bei vier Patienten.

4.2.5. Immuncytologie der kontralateralen nicht befallenen Tonsillenloge

Bei 30 Tumorpatienten wurde in den Nachuntersuchungen auch aus der kontralateralen Tonsillenloge Abstrichmaterial entnommen und in derselben Weise behandelt, wie die übrigen Abstriche. Nach Inkubation mit NaCl zeigt sich bei allen 30 Patienten ein negatives Ergebnis. Nur bei dem Patienten J.P. trugen mehrere Plattenepithelien eine deutliche Fluoreszenz.

Nach Inkubation mit autologem Serum traten bei 9 von 30 Patienten mehrere Plattenepithelien (2 - 4) auf, die eine positive Fluoreszenz aufwiesen. Alle übrigen Patienten hatten einen negativen Abstrich. Der Patient F.P., der bereits in der NaCl-Kontrolle positive Werte von Plattenepithelien aufwies, hatte auch mit autologem Serum mehrere fluoreszenzpositive Plattenepithelien. Der Patient bekam später auf der Seite des Primärtumores ein ausgedehntes Rezidiv.

4.2.6. Immunfluoreszenzabstriche von Normalpersonen (Tab. 9)

Von 11 Normalpersonen wurden Abstriche zur Kontrolle entnommen. Diese Personen hatten zum Zeitpunkt der Abstrichentnahme keine Erkrankung des Nasen-Rachenraumes. Die Abstriche wurden mit NaCl, autologem Serum und allogenen Seren von Tonsillencarcinompatienten inkubiert. Alle Patienten hatten in der Kochsalzkontrolle negative Abstriche. Bei der Inkubation mit autologen Seren zeigten 88 % der Abstriche keine Fluoreszenz auf den Zellen. Bei 2 Abstrichpraeparaten gesunder Personen waren 3 Plattenepithelien nachzuweisen, die eine Fluoreszenz auf ihrer Oberfläche trugen. Nach Inkubation mit den Seren der Tonsillencarcinompatienten wurde bei keinem Abstrich eine Fluoreszenz gefunden.

Name	Kontrolle	Autologes Serum	Allogenes Serum (Tons-Ca-Patienten)
M.A.	--	--	--
D.Z.	--	3PE +	--
F.G.	--	--	--
H.L.	--	3PE +	--
G.F.	--	--	--
M.A.	--	--	--
W.F.	--	--	--
H.K.	--	--	--
M.O.	--	--	--
H.D.	--	--	--
H.M.	--	--	--

Tab. 9.: Immunfluoreszenz der Abstriche von Normalpersonen
Die Personen hatten keine erkennbare Erkrankung des Nasen-Rachenraumes. Mit allogenen Seren von Tonsillencarcinompatienten tritt keine Fluoreszenz auf.

4.3. Suppressorzellen, T- und B-Zellverteilung bei Tonsillencarcinompatienten

Die Untersuchung von immunologischen Parametern, wie Suppressorzellen und T- und B-Zellpopulationen sollte mit der Klinik korreliert werden. Dabei wurde davon ausgegangen, daß zwischen Tumorentstehung und immunologischem System Interaktionen bestehen, die der Tumor seinerseits beeinflußt.

4.3.1. Immunologische Parameter von Normalpersonen (Tab. 10)

Die Bestimmung der T-Zellen erfolgt mit dem Rosettentest. Hier werden die Normalwerte mit 40 - 70 % angegeben. Die B-Zellpopulation wird nach der Immunfluoreszenzmethodik bestimmt. Hier liegen die Werte für Normalpersonen um 20 % (7). Von 10 Normalpersonen wurde di Suppressoraktivität von aktivierten und von spontanen Suppressorzellen bestimmt. Diese Personen waren zum Zeitpunkt des Testes gesund, hatten weder eine Krankheit, die das immunologische System beeinflußen konnte, noch waren die Testpersonen Tumorträger.

In der MLC betrug die Suppressoraktivität bei den aktivierten und der spontanen Suppressorzellen je + 3 %. Bei der PHA-Stimulation zeigte sich eine suppressive Aktivität von - 2 % bei den spontanen Suppressorzellen, die aktivierten Suppressorzellen hingegen üben eine Suppression von - 11% aus.

PHA		MLC	
+ Con A	ø Con A	+ Con A	ø Con A
- 11 ± 43	- 2 ± 11	+ 3 ± 24	+ 3 ± 27

Tab. 10.: Suppressorzellaktivität bei 10 Normalpersonen
Alle Angaben in %

4.3.2. Immunologische Parameter zum Therapiebeginn

Noch vor der Therapie wurde den Patienten Blut zur immunologischen Untersuchung abgenommen. Bestimmt wurden folgende immunologische Parameter der Operationspraeparate aus der Tonsille oder den entfernten Lymphknoten: Suppressorzellaktivität und T- B-Zellen. Die Suppressoraktivität konnte nur im peripheren Blut und in den Lymphknoten bestimmt werden, da zu diesem Test das untersuchte Praeparat steril sein muß und dies bei den Tonsillencarcinompraeparaten nicht gewährleistet ist (Tab. 11).

Suppressorzellaktivität

Nach der Generation von aktivierten Suppressorzellen aus dem peripheren Blut und den Lymphknoten zeigen sich in der Mitogenstimulation mit PHA mit - 23 % und - 24 % keine Unterschiede. Demgegenüber liegt der Wert der spontanen Suppressorzellen in den Lymphknoten mit - 20 % wesentlich höher als im peripheren Blut (-13%). Eine wesentlich höhere suppressive Aktivität der Lymphocyten aus den Lymphknoten gegenüber dem peripheren Blut wird vor allem in der MLC deutlich. So liegt der Suppressionswert bei den spontanen Suppressorzellen im Lymphknoten bei - 13% im peripheren Blut aber nur bei -6%. Aktivierte Suppressorzellen aus dem Lymphknoten üben mit -46 % im Vergleich zu -20 % aus dem peripheren Blut eine höhere Aktivität aus.

T- B-Zellen

Bei der T- und B-Zellpopulation können peripheres Blut, Lymphknoten und das Tonsillenpraeparat verglichen werden. Diese Populationen erreichen auch bei unseren Tonsillencarcinompatienten mit 47 % T-Zellen und 16 % B-Zellen Normalwerte. Dagegen sind von den Lymphocyten der Tonsille nur 27 % T-Zellen, während mit 26 % die B-Zellen erhöht sind. Mit 29 % T-Zellen und 28 % B-Zellen verhalten sich die Lymphocytenpopulationen im Lymphknoten ähnlich wie in der Tonsille.

	PHA		MLC		T	B
	akt	spont	akt	spont		
p.B.	XXX -23 ±32	XXVIII -13 ±33	XXVII -23 ±30	XXVII -7 ±28	XXIX 43 ±19	XXV 16 ±8
Lk	VI -24 ±40	VIII -20 ±36	VII -46 ±20	VIII -13 ±39	XIX 29 ±14	XX 28 ±12
Tons.-Tumor					XV 27 ±15	XVII 26 ±12

Tab. 11: Immunologische Parameter bei Therapiebeginn aus dem peripheren Blut (p.B.), Lymphknotenmetastasen (Lk) und der befallenen Tonsille.

Alle Angaben in Prozent ± Standardabweichungen. Römische Ziffern = n-Zahlen.

Horizontal: Testansätze (PHA, MLC) zur Messung der Suppressorzellaktivität von spontanen und mit Con A aktivierten Lymphocyten. T-B-Zellpopulationen.

Vertikal: Material zur Lymphocytengewinnung.

4.3.3. Tumorload und immunologische Parameter

Die Einteilung der Tumorstadien erfolgte nach dem TNM-System. Die Untersuchung der Suppressoraktivität und der T- und B-Zellverteilung wurde noch vor dem Behandlungsbeginn vorgenommen, so daß die immunologische Abwehrlage der Patienten noch von keiner Therapie beeinflußt wurde.

Veränderungen bei Lymphknotenmetastasen (Tab. 12)

Deutliche Unterschiede in der suppressiven Aktivität zeigen Patienten ohne gegenüber Patienten mit Lymphknotenmetastasen. Die Patientengruppe ohne Lymphknotenmetastasen weist eine beträchtliche lokal Tumorausdehnung auf. Nur eine Patientin hat einen T 1 Tumor, währer alle anderen Patienten einen lokal sehr ausgedehnten (T 3) Tumor be saßen. Von dieser Gruppe, die 7 Patienten umfaßte, mußten 3 Patient aufgrund des ausgedehnten Befundes cytostatisch behandelt werden. dieser Gruppe war die Suppressionsaktivität mit -55 % bzw. -41 % in der PHA sehr hoch, auch in der MLC trat eine sehr starke suppre sive Aktivität auf. War der Tumor dagegen bereits in einen Lymphknoten metastasiert, nahm dort die suppressive Aktivität gegenüber der Patientengruppe ohneLymphknotenmetastasen ab. Innerhalb der Gr mit Lymphknotenmetastasen wird deutlich, daß bei Zunahme der Lymph knotenmetastasen auch die suppressive Aktivität wieder zunimmt. Di Aktivität der mit Con A generierten Suppressorzellen steigt hier v - 11% bei einem Lymphknotenbefall N 1 auf - 31 % bei N 3 Lymphknot Bei den spontanen Suppressorzellen zeigt sich bei N 1 Lymphknoten eine leichte Stimulation von + 8 %, bei N 3-Lymphknoten aber eine Suppression von - 45 %. In der MLC schwanken die Werte der aktivie Suppressorzellen um - 17%, die spontanen Suppressorzellen um - 12 mit Ausnahme einer Stimulation bei Patienten mit einem N 2-Lymphknotenbefall. Im Gegensatz zu der Suppressoraktivität ergeben sich bei der T- und B-Zellverteilung keine Unterschiede zwischen den Patienten mit und ohne Lymphknotenmetastasen.

Die T-Zellpopulation nimmt mit ungefähr 50 % Normalwerte an und es treten auch mit einer Zunahme der Lymphknotenmetastasierung von N 1 auf N 3 keine Veränderungen auf. Die B-Zellen schwanken zwischen Werten von 13 und 20 Prozent.

Veränderungen in Abhängigkeit der Lokalausdehnung (Tab. 13)

Wird bei der Stadieneinteilung nur die lokale Tumorausdehnung betrachtet und bleibt die Lymphknotenmetastasierung unberücksichtigt, so ergibt sich bei den immunologischen Parametern folgendes Bild:

Von der Gruppe der T 1-Tumoren konnte nur ein Wert bestimmt werden. Hier beträgt die Suppressoraktivität 0 %. Bei den aktivierten Suppressorzellen nimmt die Aktivität mit Zunahme der Lokalausdehnung von -33 % auf -20 % ab. Bei allen übrigen Testen schwankt die Suppressoraktivität zwischen -10 und-18 Prozent mit Ausnahme der spontanen Suppressorzellen der T 2-Tumoren.

Die T-Zellpopulation nimmt mit der Zunahme der Lokalausdehnung des Tonsillencarcinoms paradoxerweise von 37 % auf 51 % zu.

Demgegenüber fällt die B-Zellpopulation von 20 % auf 15 % ab, befindet sich damit aber noch im Normalbereich.

	PHA akt		PHA spont.		MLC akt		MLC spont.		T		B	
N 0	-55	± 17 VI	-41	± 22 VII	-34	± 9 IV	-18	± 26 V	48	± 9 IV	13	± 5 III
N I	-11	± 22 VIII	+8	± 15 VIII	-21	± 33 IX	-11	± 15 VIII	51	± 20 VI	14	± 8 VI
N 2	-10	± 31 VII	+2	± 32 VI	-16	± 28 VI	+23	± 11 VI	47	± 18 IV	20	± 8 IV
N 3	-31	± 28 III	-45	± 32 II	-17	± 8 III	-13	± 26 III	49	± 19 II	16	± 0 I

Tab. 12.: Einfluß der Tumorausdehnung auf immunologische Parameter
Alle Angaben in Prozent ± Standardabweichungen. Römische Ziffer = n-Zahlen

Horizontal: Testansätze (PHA, MLC) zur Messung der Suppressorzellaktivität von spontanen und mit Con A aktivierten Lymphocyten. T-B-Zellpopulationen.

Vertikal: Aufschlüsselung der Tumorstadien der Tonsillencarcinompatienten nach dem jeweiligen Lymphknotenbefall (No bis N3)

	PHA akt	PHA spont	MLC akt	MLC spont	T	B
T 1		+4 I ±0		-4 I ±0		
T 2	-33 V ±33	-14 VI ±39	-10 IV ±31	+10 IX ±22	37 III ±4	20 II ±0
T 3	-20 XIX ±30	-14 XVI ±31	-18 XVIII ±25	-10 XVII ±23	51 XIII ±18	15 II ±12

Tab.13: Einfluß der Tumorausdehnung auf immunologische Parameter

Alle Angaben in Prozent ± Standardabweichungen. Römische Ziffer = n-Zahlen

Horizontal: Testansätze (PHA; MLC) zur Messung der Suppressorzellaktivität von spontanen und mit Con A aktivierten Lymphocyten. T-B-Zellpopulationen.

Vertikal: Aufschlüsselung der Tumorstadien der Tonsillencarcinompatienten nach der lokalen Ausdehnung (T1 bis T3)

4.3.4. Einfluß der Therapie auf immunologische Parameter

Zur Beurteilung des Therapieeinflußes der verschiedenen Behandlungsarten wie Operation, alleinige Bestrahlung und cytostatischer Therapie wurden als Ausgangswerte von Suppressoraktivität, T- und B-Zellverteilung jeweils die Werte aus dem peripheren Blut zum Behandlungsbeginn verwendet. Verglichen wurden diese Werte mit den immunologischen Parametern nach Beendigung der Bestrahlung, bzw. der cytostatischen Therapie. Da sich bei den Patienten mit der operativen Therapie immer noch eine zusätzliche Bestrahlungsbehandlung anschloß, wurden zur Beurteilung des Effekts der Operation immer jene Werte verwendet, die nach der Operation, aber noch vor der Bestrahlung, gewonnen werden konnten. Der Abstand zum Therapiebeginn lag dennoch in allen Gruppen zwischen 1 und 2 Monaten.

4.3.4.1. Operation und immunologische Parameter (Abb. 20)

Noch vor der Operation lag bei diesen Patienten im Test mit der PHA-Stimulation die suppressive Aktivität bei -8 bis -15 Prozent. 1 - 2 Monate nach der Operation zeigt sich in demselben Testansatz mit -8 % bzw. -9 % ein teilweiser Abfall der Suppressoraktivität. Nur geringe Unterschiede treten in der MLC bei den Werten vor und nach der Therapie auf. Bei den aktivierten Suppressorzellen sinken die Werte von -19 % auf -16%. Die Aktivität der spontanen Suppressorzellen ist bereits vor der Operation mit -7 % nur sehr gering. Dies ändert sich auch nach der Therapie nicht.

Die T-Zellpopulation liegt sowohl vor als auch nach der operativen Behandlung mit ungefähr 49 % im unteren Normbereich. Ebenso unverändert durch die Therapie fluktuieren die B-Zellen mit -17 vor und -16 Prozent nach der Therapie im Bereich der Norm (Tab. 14).

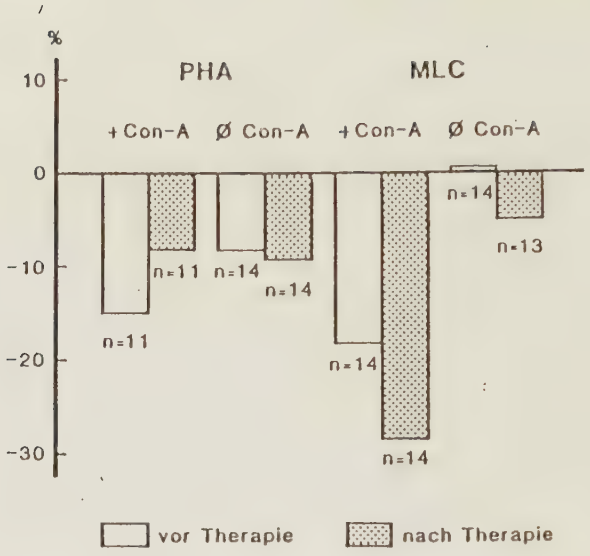


Abb. 20.: Einfluß der Operation auf die Suppressorzellaktivität (in %)
bei Patienten mit Tonsillencarcinomen.

	OPERATION		BESTRAHLUNG		CYTOSTATIKA	
	T	B	T	B	T	B
vor	49 ±16 VII	17 ±6 VII	49 ±20 III	14 ±0 I	51 ±18 V	11 ±5 V
nach	48 ±12 II	16 ±4 II	60 ±0 I	12 ±0 I	44 ±0 I	18 ±0 I

Tab. 14.: Einfluß der Behandlungsarten auf T-B-Zellen

Alle Angaben in Prozent ± Standardabweichungen. Römische Ziffern = n-Zahlen.

Vertikal: Zeitpunkt der Untersuchung: vor bzw. nach der Behandlung

Horizontal: T-B-Zellen aufgeteilt auf die Therapiearten.

4.3.4.2. Einfluß der Bestrahlung auf immunologische Parameter (Abb. 21)

Die aktivierten Suppressorzellen weisen vor der Bestrahlung sowohl in der PHA als auch in der MLC-Stimulation eine Suppression von -18 % auf. Diese suppressive Aktivität bleibt nach der Strahlenbehandlung in der PHA nahezu unverändert. In der MLC tritt eine gesteigerte Suppression (-34 %) dagegen auf. Die spontanen Suppressorzellen haben vor der Bestrahlung eine Aktivität von -23 %, in der PHA, und -27 % in der MLC. Bei den spontanen Suppressorzellen ist im Gegensatz zu den aktivierten Lymphocyten beinahe die gesamte suppressive Aktivität nach der Bestrahlung verschwunden. Sie beträgt nur noch zwischen -4 und -8 Prozent.

Die T-Zellen bewegen sich unbeeinflußt von der Bestrahlung im Normbereich mit insgesamt einen leichtem Anstieg nach der Bestrahlung. Nahezu unverändert bewegen sich die B-Zellen im unteren Normbereich, bei -14 % vor und -12 % nach der Strahlentherapie (Tab. 14).

4.3.4.2. Einfluß der cytostatischen Therapie auf immunologische Parameter (Abb.22)

Bei Behandlungsbeginn zeigen diese Patienten eine sehr hohe suppressive Aktivität. In der PHA liegt der Wert bei den aktivierten Suppressorzellen bei -50 %, bei den spontanen Suppressorzellen bei - 22 %. Ein ähnliches Verhalten zeigt die MLC, bei der mit -43 % bei den aktivierten Suppressorzellen eine hohe Aktivität vorliegt. Die spontanen Suppressorzellen weisen vor der cytostatischen Therapie eine Aktivität von -10 % auf. Sowohl in der PHA als auch in der MLC-Stimulation zeigt sich nach der cytostatischen Behandlung eine stark verminderte suppressive Aktivität. In der PHA ist nach der Behandlung keine Suppression nachzuweisen, es tritt sogar mit +1 bzw. +8 Prozent eine leichte Stimulation auf.

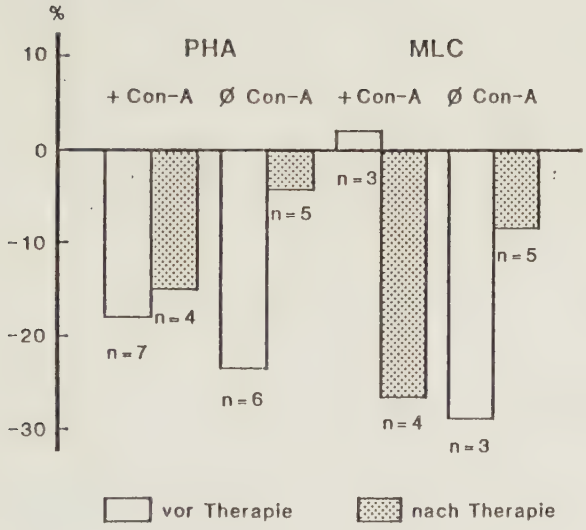


Abb. 21.: Einfluß der Bestrahlung auf die Suppressivzellaktivität (in %) bei Patienten mit Tonsillencarcinom.

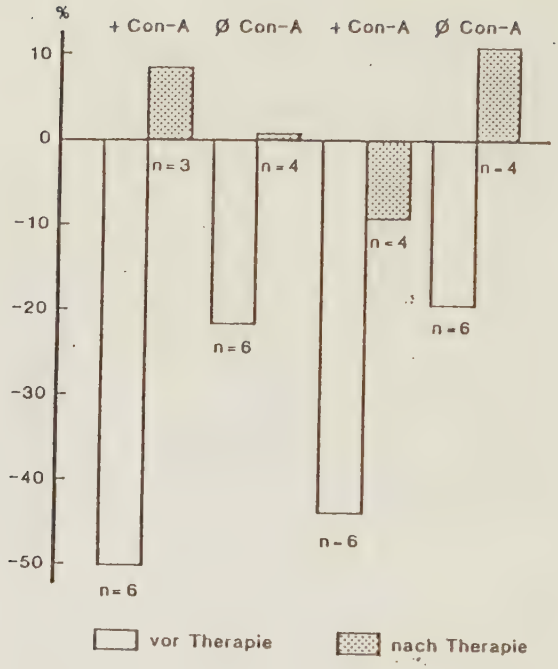


Abb. 22.: Einfluß der cytostatischen Behandlung auf die Suppressorzellaktivität (in %) bei Patienten mit Tonsillencarcinom: Es tritt ein deutlicher Abfall der Suppressoraktivität ein, mit teilweisem Auftritt von Stimulation.

Auch Cocultivation von MLC und spontanen Suppressorzellen resultiert in einer Stimulation von 11 %. Die aktivierten Suppressorzellen induzieren zwar nach der cytostatischen Therapie mit -19 % noch eine relativ hohe suppressive Aktivität, sind im Vergleich zum Wert vor der Therapie aber stark vermindert.

In den T- und B-Zellpopulationen ist durch die cytostatische Behandlung nur insofern eine geringfügige Änderung erkennbar, als die T-Zellen innerhalb der Norm geringfügig abfallen, während die B-Zellen von 11 % auf 18 % ansteigen (Tab. 14).

4.3.5. Immunologische Parameter bei unterschiedlichem Krankheitsverlauf

Von dem Gesichtspunkt ausgehend, daß sich immunologische Parameter verändern oder bereits verändert sind, wenn ein akuter Krankheitsverlauf vorliegt, werden die untersuchten Patienten in zwei Gruppen unterteilt. Die erste Gruppe (A) enthält jene Patienten, die entweder später ein Rezidiv bekommen hatten oder bereits an ihrem Tumor verstarben (schlechte Prognose). Die andere Gruppe (B) (gute Prognose) enthält jene Patienten, die sich unter der spezifischen Therapie wieder gut erholten und bei denen bisher weder ein Rezidiv auftrat, noch der Verdacht auf eine Rezidivierung des Tumors vorlag. Die immunologischen Parameter wurden zum Therapiebeginn bestimmt. Die obige Gruppeneinteilung erfolgte aber in diesem Fall zu einem späteren Zeitpunkt, wenn nämlich retrospektiv aufgrund des bisherigen Krankheitsverlaufes eine Klassifizierung in die Gruppen mit guter bzw. schlechter Prognose möglich war (Tab. 15).

Patienten mit guter Prognose weisen nur eine relativ geringe suppressive Aktivität sowohl in der PHA mit -12 % als in der MLC mit -16 % bei den aktivierten Suppressorzellen auf. Fast keine Suppression (-4 %) üben die spontanen Lymphocyten in der PHA-Kultur aus, in der

	PHA akt	PHA spont	PHA akt	PHA spont	T	B
gut	X -12 ±30	X -4 ±28	X -16 ±25	X +8 ±19	VI 62 ±10	V 12 ±3
schlecht	XIV -31 ±28	XIII -20 ±37	XII -23 ±32	XII -18 ±25	XI 39 ±16	IX 18 ±8

Tab. 15.: Suppressorzellaktivität und T-B-Zellverteilung vor Therapie

Horizontal: Testansätze zur Messung der Suppressorzellaktivität und der T-B-Zellverteilung
Vertikal: Patienteneinteilung nach dem späteren Krankheitsverlauf

Alle Angaben in Prozent ± Standardabweichungen. Römische Ziffern = n-Zahlen.

MLC wird sogar eine leichte Stimulation deutlich. Die T- und B-Zellpopulationen liegen bei Patienten mit guter Prognose ihrer Krankheit ebenfalls im Normbereich.

Bei der Gruppe mit schlechter Prognose tritt in der PHA-Kultur mit Werten von -31 % bei den aktivierten Suppressorzellen eine erhöhte Aktivität auf, die auch bei den spontanen Suppressorzellen mit -20 % noch erhöht ist. Auch in der MLC kommt es zu einer erhöhten suppressiven Aktivität, sowohl bei den mit Con A aktivierten Lymphocyten (-23 %), als auch bei den spontanen Suppressorzellen (-18 %). Patienten mit einer schlechten Prognose haben mit 39 % T-Zellen eine sehr geringe T-Zellpopulation. Die B-Zellen hingegen liegen mit 18 Prozent im Normbereich.

4.3.6. Verlauf der Suppressorzellfunktion, T- und B-Zellverteilung nach Therapie

Nach der Therapie wurde in 8-wöchigem Abstand die Suppressorzellfunktion untersucht. Die Patienten werden auch hier wieder in die obigen Gruppen A und B eingeteilt.

4.3.6.1. Suppressorzellfunktion bei Stimulation mit PHA (Abb. 23)

In der Gruppe B nimmt die Suppression bei den aktivierten Suppressorzellen ausgehend von -12 % zum Therapiebeginn bis zum 8. Monat nach der Therapie auf -24 % zu. Vom 9. bis zum 16. Monat beobachtet man nur eine sehr geringe suppressive Aktivität mit Schwankungen um -8 %. Die "schlechte" Gruppe A beginnt mit einer hohen Suppression von -31 % und fällt bis zum 10. Monat nach der Therapie beständig bis auf -3 % ab. Vom 11. bis zum 16. Monat ist wieder eine deutliche Suppression nachweisbar.

Parallel, nur mit einer geringeren Suppression, verlaufen die Werte der spontanen Suppressorzellen.

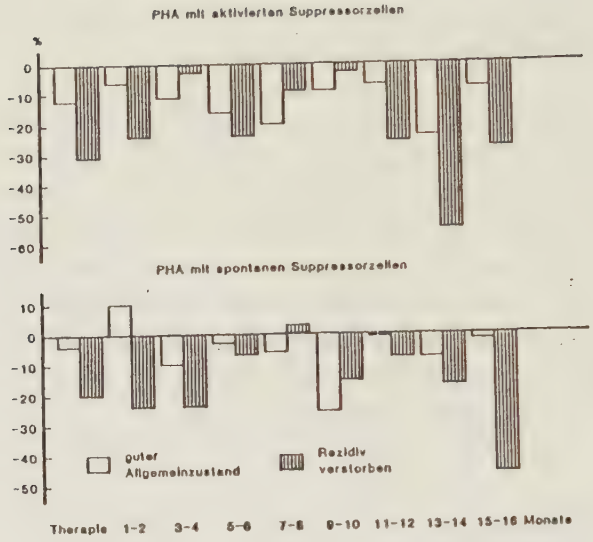


Abb. 23.: Verlauf der Suppressorzellaktivität (in %) nach Therapie zusammengefaßt in Abständen zu 2 Monaten.

Auch hier fällt der Suppressionswert der Gruppe B nach der Behandlung deutlich. Paradoxerweise tritt sogar eine Stimulation im 8. Monat nach der Therapie auf (+3%). Nach dem 10 Monat wird jedoch wieder eine deutliche Suppressoraktivität sichtbar, die eine zunehmende Tendenz aufweist. Die Werte der Gruppe B schwanken während der gesamten Beobachtungszeit um -7 % ohne größere Veränderungen erkennen zu lassen.

4.3.6.2. Suppressorzellfunktion in der MLC

Bei den aktivierten Suppressorzellen sinkt in der Gruppe B nach der Behandlung rasch die Suppression ab, es läßt sich sogar eine deutliche Stimulation zwischen dem 5. und 8. Monat nach Therapie erkennen. Nach dieser kurzzeitigen Stimulation tritt mit Werten um - 20% wieder eine starke Suppression zu Tage, die sich aber mit dem Abstand zur Therapie sichtbar verringert auf - 7 %. Bereits seit Behandlungsbeginn ist in der Gruppe A eine höhere Suppression sichtbar als in der Gruppe B. Die Suppressoraktivität dieser Gruppe verstärkt sich ausgehend von - 23 % zum Therapiebeginn auf über - 35 % mit dem Abstand zum Behandlungsanfang.

Die spontane Suppressoraktivität der "guten" Gruppe B schwankt während des gesamten Beobachtungszeitraumes um den Nullpunkt, so daß sich Suppression und Stimulation abwechseln. Bei Patienten mit schlechter Prognose nimmt die Suppression nach der Therapie zunächst ab, und es tritt auch hier wenn auch nur in sehr geringem Ausmaß eine Stimulation auf. Ab dem 7. Monat nach der Therapie ist a wieder in allen Fällen eine deutliche Suppressoraktivität zu beobachten (Abb. 24).

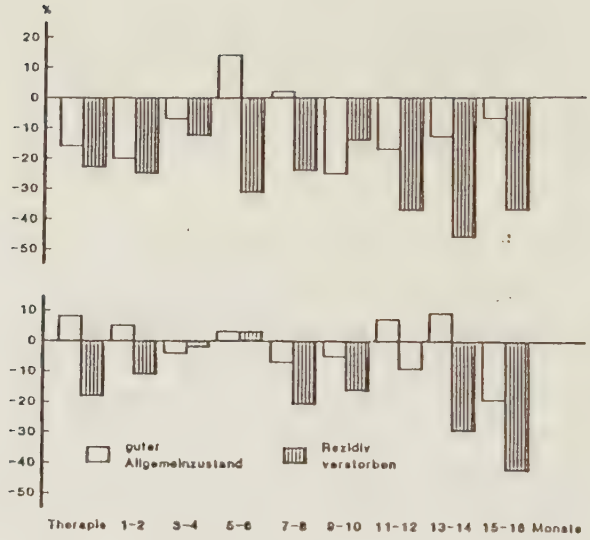


Abb. 24.: Verlauf der Suppressoraktivität nach Therapie:
Erstes Diagramm: MLC mit aktivierten Suppressorzellen
zweites Diagramm: MLC mit spontanen Suppressorzellen

Die Suppressoraktivität wird in Prozent angegeben, die postoperativen Untersuchungen werden in Abständen von 2 Monaten angegeben.

4.3.6.3. Verlauf der T- und B-Zellpopulationen nach der Therapie

Es gilt hier dieselbe Gruppeneinteilung wie bei den Suppressorzelltesten.

Zum Therapiebeginn beträgt der T-Zellanteil 62 % in der B-Gruppe. Nach der Therapie treten nur kleine Schwankungen im unteren Normbereich auf. In der Gruppe A beträgt der T-Zellanteil von Therapiebeginn an nur meist 40 %, mit einem kleinen Anstieg auf über 50 % kurz vor Ende des Beobachtungszeitraumes.
Die B-Zellen liegen bei der Gruppe B nach einem leichten Anstieg bei 20 %. Demgegenüber ist der B-Zellanteil der "schlechten" Gruppe leicht erhöht. Er schwankt mit zwei Ausnahmen (6. und 14. Monat nach Therapie) meist um 23 Prozent (Abb. 25) .

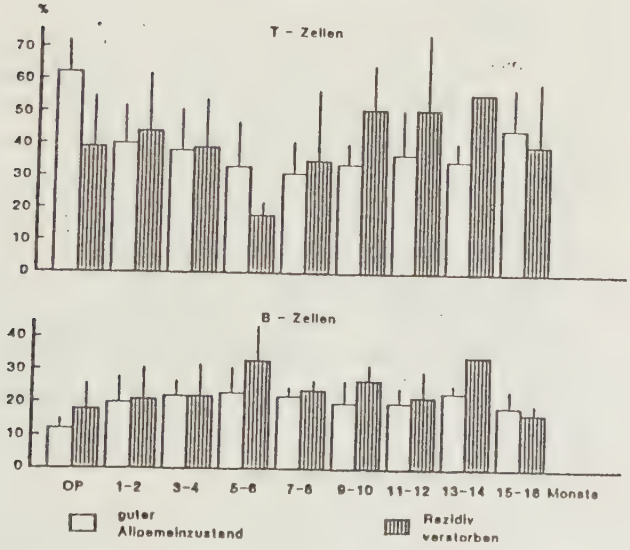


Abb. 25.: Verlauf von T- und B-Zellverteilung nach Therapie
Alle Angaben in %.

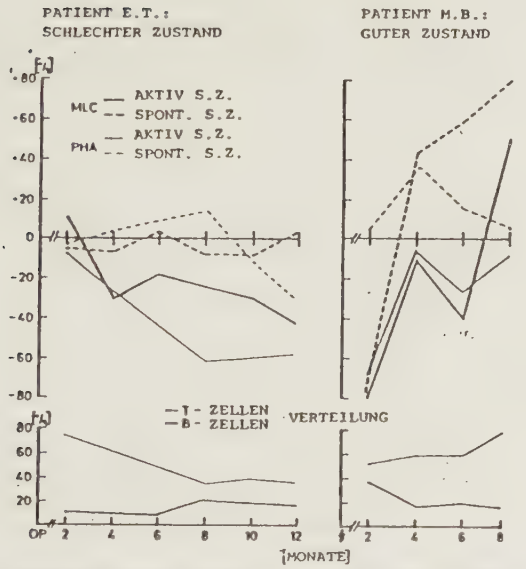
4.3.7. Verlauf immunologischer Parameter bei Einzel-Patienten

Zum besseren Vergleich sollen Patienten mit unterschiedlicher Prognose gegenübergestellt werden (Abb. 26). Bei der Patientin E.T. ♀ handelt es sich um eine 72 jährige Patientin mit einem Tonsillencarcinom vom Stadium T 3 N 1 M 0. Der Tumor konnte einer operativen Behandlung zugeführt werden. Ebenso wurde eine Strahlenbehandlung postoperativ durchgeführt. Bei der Patientin E.T. war zum Operationszeitpunkt nur eine sehr geringe suppressive Aktivität in allen Tests nachzuweisen. Dennoch aber trat 4 Monate nach der Therapie bei den aktivierten Suppressorzellen eine sehr hohe Aktivität auf, die auch parallel zur Verschlechterung des Allgemeinzustandes der Patientin zunahm bis auf Werte über -40 %. Die Suppressoraktivität der spontanen Suppressorzellen schwankte während dieser Zeit um 0 %. Mit dem Abstand zur Therapie nahmen die T-Zellen von anfänglich über 70 % auf 40 % ab. Währenddessen stiegen die B-Zellen leicht an. 8 - 10 Monate nach der Therapie mußte der Verdacht auf ein Rezidiv des Tumors gestellt werden.

Bei Frau M.B. handelt es sich um eine 66 jährige Patientin mit einem T 2 No Mo Tumor. Diese Patientin wurde ebenfalls operiert und entsprechend nachbestrahlt wie die Patientin E.T. Nach der Behandlung besserte sich der Allgemeinzustand der Patientin erheblich und es konnte bisher kein Rezidiv festgestellt werden. Die Patientin M.B. zeigte nach der Therapie eine hohe suppressive Aktivität. Aber bereits 4 Monate nach der Therapie sinkt die Suppressoraktivität sowohl in der PHA als auch in der MLC beständig ab, um sogar in eine Stimulation zu convertieren. Parallel zur Abnahme der Suppressoraktivität war eine Besserung des Allgemeinzustandes der Patientin zu bemerken. Die T-Zellpopulation nahm nach der Behandlung von 55 auf über 70 Prozent zu, während die B-Zellen insgesamt abnahmen.

Abb. 26.:

SUPPRESSOR-ZELL-TONUS IN PATIENTEN MIT TONSILLEN-KARZINOM



SUPPRESSOR TONUS ZUNEHMEND
T-ZELL-ZAHL ABNEHMEND
B-ZELL-ZAHL ZUNEHMEND

SUPPR. TONUS NIEDER
T-ZELL-ZAHL ZUNEHMEND
B-ZELL-ZAHL ABNEHMEND

Der Patient J.F. war zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eines Tonsillencarcinoms 46 Jahre alt. Das histologisch gesicherte Tonsillencarcinom wurde mit einem Stadium T 3 NI MO diagnostiziert. Die Behandlung umfaßte eine Operation und eine Nachbestrahlung. Zum Operationszeitpunkt wies der Patient keine Suppression auf. Nach der Therapie steigt die suppressive Aktivität sowohl in der MLC als auch in der PHA bei den aktivierten Suppressorzellen stark an. Die T-Zellen liegen im unteren Normbereich, teils sind sie aber bereits unter die Norm erniedrigt. Die B-Zellen steigen mit dem Abstand zur Therapie relativ stark auf Werte von über 30 Prozent an. Betrachtet man die Abstriche dieses Patienten, so treten hier 4-5 Monate nach der Operation, also parallel zum Anstieg der Suppression positive Abstriche auf. Diese Abstriche bleiben auch über den gesamten Beobachtungszeitraum hin positiv.

Bei dem Patienten J.F. trat 8 Monate nach der ersten Therapie ein Tumorrezidiv auf der Seite des Primärtumors auf. Der Patient verstarb 4 Monate später (Abb. 27).

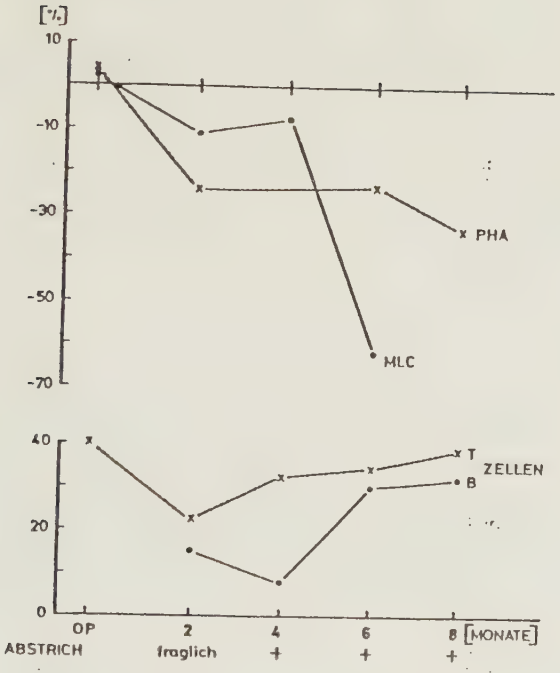


Abb. 27.: Patient J.F.; Alter 46, männlich

Op: Operation als "neck dissection"

Abstrich: fraglich = Definition siehe Text

\+ = positiver Abstrich

5. Diskussion

5.1. Das Tonsillencarcinom

5.1.1. Geschlechts- und Altersverteilung

Das Tonsillencarcinom tritt gehäuft bei Männern auf (101).
In unserem Patientengut betrug das Verhältnis männlich zu weiblich 3 : 1 . Ein ähnliches Verhältnis wird von Wang (116) bei insgesamt 262 Patienten und von Barr (11) bei 145 Patienten gefunden. Teilweise wird der Anteil männlicher Patienten mit 80% angegeben.

In der Altersverteilung findet sich die Hauptgruppe der Patienten im 4. bis zum 7. Lebensjahrzehnt. Diese Altersverteilung wird auch von den meisten Autoren angegeben (11, 24, 39, 84, 116). Fayos gibt beim Tonsillencarcinom dieselbe Altersverteilung an und zeigt, daß nur 3% der Patienten im Alter zwischen 30 und 40 Jahren sind (39).

5.1.2. Stadienverteilung

Die lokale Tumorausdehnung ist infolge der relativ späten Diagnose aufgrund der diskreten Symptomatik meist sehr weit fortgeschritten.
In 9% wird ein T 1 - Tumor diagnostiziert. Terz gibt eine T 1 - Ausdehnung nur in 4,5% aller Tonsillentumoren an (110).

Die Ausbreitungsrichtung stellt sich nach Naumann (84) folgendermaßen dar:
Häufigste Ausbreitungsrichtung sind Infiltrationen in Richtung Zungengrund, den vorderen Gaumenboden, das Velum palastinum und den Hypopharynx.
In unserem Krankengut wurde nur die lokale Ausbreitung berücksichtigt ohne Registrierung der Ausbreitungsrichtung.

Tumorvorstadien wie Leukoplakien bzw. Carcinome in situ konnten in unserem Krankengut nicht beobachtet werden.
Naumann (84) findet ebenfalls in seinem Krankengut nur in 0,9% ein Carcinom in situ.

Dieser niedrige Prozentsatz an Carcinoma in situ bzw. an Leukoplakien wirft die Frage auf, ob Leukoplakien speziell bei Tonsillencarcinomen eine ähnliche Rolle spielen, wie bei den anderen Mundhöhlen- und Pharynxcarcinomem.

In der Literatur, die diese Carcinomvorstufen behandeln, werden die Tonsillencarcinome in die Carcinome der Mundhöhle mit eingerechnet, ohne eine besondere Berücksichtigung zu finden (10, 19, 23).

Das Tonsillencarcinom weist eine sehr frühe Lymphknotenmetastasierung auf. Bereits in 71% werden bei Diagnosestellung Lymphknotenmetastasen gefunden. Die Häufigkeit von Lymphknotenmetastasen wird auch von anderen Autoren zwischen 60% und 80% angegeben (2, 11, 24, 36, 44, 116).

Lymphknotenvergrößerungen geben oft einen ersten Hinweis für einen Tumor im Naso-Pharynxbereich. Die Diagnose eines Lymphknotenbefalls ist aber nur histologisch möglich. Dabei muß davon ausgegangen werden, daß 30% der tastbaren Lymphknoten histologisch keine metastatischen Absiedlungen des Primärtumors darstellen (12).

Dem gegenüber findet sich aber bei einer "neck-dissection" in 46% ein Lymphknotenbefall von nicht palpablen Lymphknoten vor allem bei Primärtumoren, die vorzüglich in Lymphknoten metastasieren, wozu das Tonsillencarcinom gerechnet werden muß.

Bei einer solitären Lymphknotenmetastase muß allerdings berücksichtigt werden, daß bei Carcinomen anderer Körperregionen als denen des Hals-Kopf-Bereich in 19% supraclaviculäre Lymphknotenmetastasen auftreten können.
Als häufigste Primärtumoren werden Tumore der Mammae, der Ovarien, lunge, Prostata und des Magens gefunden (12).

Als Besonderheit darf die äußerst geringe Fernmetastasierungstendenz des Tonsillencarcinoms angesehen werden. Sie wird mit 1% - 3% angegeben. Andere Untersucher geben mit 1% - 5% ebenfalls eine sehr geringe Fernmetastasierung an. Häufigster Sitz hämatogener Metastasen ist laut Cardinale die Lunge und die Leber (24).

5.1.3. Therapiearten

Bei der Behandlung des Tonsillencarcinoms werden in Abhängigkeit des Primärtumors und der Lymphknotenmetastasierung vornehmlich 3 Therapiearten durchgeführt. Je nach Ausdehnung wird eine erweiterte transorale Tumortonsillektomie durchgeführt oder eine monobloc-Operation bei großen Tumoren bzw. bei Infiltrationen der Mandibula (2, 8, 76, 79, 118). Nach der Operation wird nach Abheilung der Operationsnarben eine Nachbestrahlung bis zu der Höchstdosis von 6000 rad durchgeführt (77,124).

Teilweise wird in der Literatur die Durchführung einer präoperativen Bestrahlung angegeben (22, 27, 90, 91).

Die alleinige Bestrahlung wird bei inoperablen Tumoren durchgeführt, oder wenn die Patienten die Operation verweigern.
Es wird, wenn es der Allgemeinzustand der Patienten zuläßt, bis zu der Höchstdosis von 6000 rad - 7000 rad bestrahlt (36, 39, 44, 90, 100).

Bei einem Teil der Patienten mit ausgedehnten Tumoren wird eine cytostatische Therapie nach dem Bitter-schema mit zusätzlicher Operation und Nachbestrahlung durchgeführt (76).
Diese Chemotherapie wird von verschiedenen Autoren als adjuvante Therapie diskutiert (42, 78, 125).

5.1.4. Überlebensrate der Tonsillencarcinompatienten

Das Tonsillencarcinom ist im Vergleich zu anderen Tumoren ein relativ maligner Tumor. Von den von uns überwachten 56 Patienten verstarben während des Beobachtungszeitraumes 23% d. h. 13 Patienten.
Von den meisten Autoren wird unabhängig von der Tumorausdehnung und Therapieart eine 5-Jahres-überlebensrate von 20% - 40% bzw. eine Überlebens-rate für 3 Jahre von 40% angegeben (22, 36, 39, 44, 84, 90, 100).

Mit der Zunahme der lokalen Tumorausdehnung kann eine Steigerung der Mortalität beobachtet werden. Nach einer Studie von Barr (11) hängt die Überlebensrate gerade bei Tonsillencarcinompatienten sehr stark von dem klinischen Stadium ab. Hier wird die 3-Jahresüberlebensrate für T 1-Tumoren mit 63%, für T 2-Tumoren mit 56% und für T 3-Tumoren mit nur 31% angegeben.
Die mittlere Überlebenszeit gibt Barr bei T 1-, T 2-, T 3-Tumoren mit 56, 40 bzw 11 Monaten an. Andere Autoren geben ähnliche Abhängigkeiten von Mortalität und Tumorausdehnung an (36, 39, 84, 90, 116).
Eine wesentlich bessere Überlebensrate gibt Scalon bei 131 Patienten mit einer 5-Jahresüberlebensrate von 52% an (100).
Quenelle und Mitarbeiter sehen bei T 1-Tumoren eine 2-Jahresüberlebensrate von 100% (97).

Betrachtet man Patienten, die operiert und nachbestrahlt wurden gegenüber Patienten, deren Tumor mit alleiniger Bestrahlung behandelt wurde, so ergeben sich leicht unterschiedliche Überlebensraten. Bei operativer Therapie gibt Barr eine 2-Jahresüberlebensrate von 61% an, bei alleiniger Bestrahlung 50% (11).
Naumann gibt bei 3-Jahresheilungen ebenfalls bei operativer Therapie ein besseres Ergebnis an als bei Bestrahlung (84).

Maltz (77) und Perez (92) fanden in ihren Studien keinen Unterschied zwischen Operation und alleiniger Bestrahlung. Für eine Bevorzugung der operativen Behandlung sprechen Ergebnisse von Barr (11), der eine signifikant höhere Rezidivrate bei präoperativ bestrahlten Patienten und bei Patienten mit alleiniger Bestrahlung gegenüber operierten Patienten fand.

5.2. Immunfluoreszenz

5.2.1. Diskussion der Immunfluoreszenzmethode

Die methodischen Grundlagen der Immunfluoreszenz wurden ursprünglich von Coons beschrieben (30). Dieses Prinzip wurde auch bisher nicht grundsätzlich verändert. Unser methodisches Vorgehen entspricht der Immunfluoreszenzmethode wie sie von Wick (122) und Lewis (79) beschrieben wurde. Alle Arbeiten wurden bei Raumtemperatur ausgeführt, da keine spezielle Fragestellung, z.B. nach Art der Membranfluoreszenz, wie es z.B. ein Capping darstellt, bei der Temperatur von 37° Grad angewendet werden müssen, vorhanden war.

Eine spezielle Konservierung der Immunfluoreszenzpraeparate, wenn z.B. die Ablesung der Praeparate erst 24 Stunden nach der Aufbereitung erfolgt, war nicht nötig.

5.2.2. Unspezifische Fluoreszenz

Manche Gewebe sind bei UV-Licht zur Eigenfluoreszenz fähig: so z. B. das stratum corneum, das bei UV-Licht bläulich aufleuchtet. Zur Ausschaltung bzw. zur Erkennung dieser Autofluoreszenz dient eine alleinige Kochsalzkontrolle. In den FITC-Konjugaten kann ein gewisser Prozentsatz nicht gebundenes FITC vorhanden sein. Bei der Inkubation mit antigenem Material verhält sich freies FITC wie ein gewöhnlicher histologischer Farbstoff und führt zu unspezifischer Fluoreszenz. Diese sogenannte Fluorchromierung kann durch hochgereinigtes Konjugat weitgehend verhindert werden.

Andere unspezifische Bindungen vermögen Serumproteine, die in hoher Anzahl vorkommen und nicht zur Antikörperfraktion zählen, mit dem Konjugat eingehen. Diese Art der falsch positiven unspezifischen Fluoreszenz wird durch Mitführen einer Normalserumkontrolle eliminiert. Weitere unspezifische Fluoreszenzen können durch das Konjugat selbst durch Beimischung von Serumproteinen in die Antikörperfraktionen des Konjugats ausgelöst werden.

Die Stärke der Konjugation von FITC und Antikörpern unterliegt durch Veränderungen der Wasserlöslichkeit und der Basophilie geringen Schwankungen.

Sämtliche unspezifischen Reaktionen können weitgehend eliminiert werden, wenn hochgereinigtes Konjugat verwendet wird, und sowohl das FITC-Konjugat, als auch die zu testenden Seren verdünnt werden. Als eine genügend hohe Verdünnung wird eine Verdünnung ab 1 : 10 angesehen (122).

5.2.3. IgG-Antikörper

In den Kontrollen mit Kochsalz und den Seren gesunder Probanden wurde nur eine sehr geringe Anzahl fluoreszenzpositiver Tumorzellen gefunden. Bei dieser positiven Fluoreszenz muß teilweise angenommen werden, daß es sich trotz der Verdünnungen um unspezifische Reaktionen handelt. Da aber der Prozentsatz positiver Zellen bei der Inkubation mit gesunden Seren gegenüber der Kochsalzkontrolle erhöht ist, kann von der Annahme ausgegangen werden, daß diese Reaktionen teilweise auch durch natürliche praeformierte Antikörper der gesunden Probanden hervorgerufen werden. Zum Teil wurden diese Antikörper im Rahmen der Evolution gegen Antigene produziert, die später in der normalen Entwicklung des Körpers nicht mehr gebildet werden und nur noch innerhalb einer Antigenitätsänderung bei der Tumorentwicklung wieder entstehen. Als Beispiele solcher Tumorantigene dürfen das CEA (carcino-embryonales-Antigen) bei Carcinomen des Magen-Darm-Traktes und der Mamma, sowie das Alpha-feto-Protein bei Lebercarcinomen angesehen werden (119).

Zum Teil aber handelt es sich bei diesen Fluoreszenzen um spezifische Reaktionen zwischen Tumorantigenen und Serumantikörpern, die in vivo oder unter der Praeparation eingetreten sind. Dies wäre möglich im Rahmen der Revaskularisierung bzw. eines Einblutens in den Tumor. Außerdem erhalten Tumorzellen, die an der Peripherie des Tumors liegen, während der Tumorexcision oftmals Kontakt mit dem Serum, da keine totale Blutleere im Operationsgebiet erlangt wird (122).

Bei der Inkubation mit autologen Seren können hohe Antikörpertiter der IgG-Klasse nachgewiesen werden. Vorteil der Inkubation von autologen gegenüber allogenen Seren ist, daß sowohl Antigene als auch Antikörper vom Tumorträger selbst stammen, also keine Absorption durchgeführt werden muß. Bei der Inkubation mit allogenen Seren ergab sich ein ähnlich hoher Prozentsatz positiver Tumorzellen. Da die Untersuchung sofort nach der Excision des Tumors erfolgt, besteht keine Möglichkeit, daß der Tumor seine Antigenität ändert, wie es bei der Kultivierung von Zell-Linien vorkommt (52).

Sowohl im autologen wie auch im allogenen System waren bei allen Patienten Antikörper nachzuweisen. Dies wird auch von anderen Autoren bei Blasen-Carcinompatienten beschrieben (26). Obwohl aber alle Patienten Antikörper sowohl im allogenen System als auch im autologen System aufweisen, tragen nur zwischen 30 und 40 Prozent der Tumorzellen selbst eine Fluoreszenz.

Diese speziellen Verhältnisse finden ihre Erklärung in der Lage und Entwicklung des Tonsillencarcinoms. Durch seinen unmittelbaren Kontakt mit dem lymphatischen System in Form seines Wachstums auf der Tonsille findet eine besonders frühzeitige und direkte Stimulierung zur Antikörperbildung statt. Dies könnte erklären, warum alle Tumorpatienten bereits bei der Tumorexstirpation Antikörper tragen. Andererseits ist wie bei jedem Tumor ein Escape-Phänomen in Form einer Antigenänderung des Tumors zu diskutieren. Durch diese neuerdings bzw. fortlaufende Änderung der Antigenität reagieren diese Tumorzellen nicht mehr mit den "alten" Serumantikörpern. Dies könnte erklären, weshalb der Prozentsatz positiver Tumorzellen relativ absinkt - von anderen aber wieder ersetzt wird.

Zum Teil aber muß die Abnahme positiver Fluoreszenzen auch auf die Praeparation zurückgeführt werden. Über die Ficoll-separation können Tumorzellen und normale Plattenepithel-zellen nicht sauber getrennt werden. Da somit normale Platten-epithelien in die Praeparation mit eingehen, müßten sie im Fluoreszenzmikroskop ausgesondert werden. Dies ist teilweise aber nicht möglich, sodaß Plattenepithelien in der Zählung mitgerechnet werden. Diese weisen natürlicherweise keine Fluoreszenz auf und senken so den Prozentsatz positiver Tumor-zellen.

Einen weiteren Hinweis auf eine Antigenitätsänderung kann aus den Fluoreszenzergebnissen bei Lymphknotenpraeparaten abge-leitet werden. Da Primärtumor und Lymphknotenentnahme gleich-zeitig erfolgen und keine Unterschiede in der Praeparation be-stehen, müßten die Fluoreszenzergebnisse gleich sein. Dennoch findet sich bei Lymphknotenmetastasen ein niedrigerer Prozent-satz positiver Zellen als bei den Primärtumoren (30 bis 40 %). Ein Abfall der Antikörper gegen Tumorzellen aus Lymphknoten-metastasen kann durch solche Escape-Phänomene erklärt werden. Dabei wird angenommen, daß nur Tumorzellen, die der Immunsur-veillance entkommen, eine Metastasierung des Tumors herbei-führen können. Ein solches Entkommen kann durch eine Antigeni-tätsänderung der Tumorzelle herbeigeführt werden (z.B. Ag-Ver-lust, Ag-Modifikation).

Antikörper, die gegen den Primärtumor wirksam sind, können zum Teil mit den Tochterzellen der metastasierenden Tumorzelle keine spezifische Reaktionen mehr eingehen. Dadurch wird eine Abnahme des Prozentsatzes positiver Tumorzellen in den Lymph-knotenmetastasen bedingt.

5.2.4. Spezifität der IgG-Antikörper

Tumorzellen des Patienten B.W. zeigen bei der Inkubation mit den allogenen Serum A.M. in 32 % eine Fluoreszenz. Wurde aber das Serum mit Tumorzellen von Patient G.H. oder R.F. absorbiert, so ist nur noch in 10 bis 15 % eine Fluoreszenz vorhanden. Diese Antikörper, die sowohl mit dem Tumor des Patienten B.W.reagieren, als auch mit Tumorzellen der Patienten G.H. und R.F., betragen in diesen Fällen ungefähr 50 %. Bei Absorptionsversuchen mit anderen Seren stellt sich je nach absorbierten Seren und absorbierenden Tumorzellen ein unterschiedlicher Prozentsatz an Absorption ein.

Einige der Tumorzellen können sogar sämtliche Antikörper die gegen einen anderen Tumor gerichtet sind (siehe R.J. und B.J.) absorbieren. Andere Tumorzellen, z.B. des Patienten F.V. können nur die Hälfte der Antikörper absorbieren (Tab.16) Bei diesen Antikörpern, die mit den Tumorzellen verschiedener Patienten reagieren können, handelt es sich um gruppenspezifische Antikörper. Diese gruppenspezifischen Antikörper sind nach den Absorptionsversuchen nicht bei allen Tumorpatienten in gleichem Maße vorhanden, sondern können große quantitative Unterschiede aufweisen. 30 bis 80 % der IgG-Antikörper reagieren gruppenspezifisch gegen Tonsillencarcinomzellen. Tumoren wie z.B. von Patient R.J. und B.J. können alle Antikörper, die gegen die Tumorzellen des Patienten A.W. gerichtet sind, fast vollständig absorbieren. Dies setzt voraus, daß sich die antigenen Strukturen auf den Tumorzellen dieser Patienten sehr ähnlich bzw. sogar identisch sind.

Antikörper, die nicht durch Absorption mit anderen Tonsillencarcinomzellen absorbiert werden können, können zu den sogenannten individualspezifischen Antikörpern gerechnet werden. Auch sie sind in unterschiedlichem Maße bis zu 70 % im Patientenserum vorhanden. Diese Antikörper reagieren nur mit den autologen Tumorzellen und können durch allogene Tumorzellen nicht absorbiert werden.

Tumorzellen (Patient)	Absorption Serum +	Tumor	Immunfluoreszenz (in %)
1) B.W.	A.M.	G.H.	10
B.W.	A.M.	R.F.	15
B.W.	A.M.	--	40
2. A.W.	A.W.	R.J.	0
A.W.	A.W.	F.V.	18
A.W.	A.W.	B.J.	3
A.W.	A.W.	---	40

Tab. 16.: Absorption von IgG-Antikörpern durch allogene Tonsillencarcinomzellen bei Tumorzellen der Patienten B.W. und A.W.

Die Antikörper der IgG Klasse, die gegen Tonsillencarcinom-antigene gerichtet sind, vermögen nicht mit Tumorzellen anderer Carcinome zu reagieren. So können keine Kreuzreaktionen mit Zellen von Blasen und Nierencarcinomen gefunden werden (27). Ungekehrt kann gegen Tonsillencarcinomzellen keine Antigen-Antikörperreaktionen mit Seren von Blasen und Nierencarcinompatienten gesehen werden. Dies bedeutet, daß diese Antitumorantikörper nur mit ihrer speziellen Tumorart assoziiert sind, während keine Kreuzreaktionen mit anderen Tumorantigenen möglich sind. Dies muß auf die unterschiedliche Membranantigenstruktur der einzelnen Tumorarten zurückgeführt werden. Unterschiede in der Antigenstruktur sind in diesen Fällen in besonderer Weise durch die aetiologischen Faktoren der Tumoren zu erklären: Während bei Tonsillencarcinomen Rauchen und Alkohol im Vordergrund steht, dürfte bei Blasencarcinomen Anilinstoffe eine größere Rolle spielen. Bei Nierencarcinomen können keine aetiologischen Faktoren angeführt werden.

5.2.5. Antikörper der IgA-, IgM-Klasse

In der Immunfluoreszenz mit IgA-Antikörpern wurde nur eine sehr geringe Reaktion gesehen. Von anderen Autoren wird ein Anstieg von IgA-Antikörpern als ein Hinweis für ein Nasopharynxcarcinom angesehen (53,123). IgA-Antikörper gelten auch als pathognomonisch für EBV-Infektionen, die wiederum in hoher Korrelation mit Nasopharynxcarcinomen stehen (111). Es wird beschrieben (123). daß das Vorkommen von IgA-Antikörpern gegen frühe Antigene (IgA-EA) sowie gegen das Virus-Capsid Antigen (VCA) beweisend für ein Nasopharynxcarcinom ist, da Antikörper dieser Gruppen bei Normalpersonen nur äußerst selten und nur in geringen Konzentrationen vorkommen.

Ebenso wie IgA-Antikörper spielen in der Immunfluoreszenz die IgM-Antikörper nur eine geringe Rolle. IgM-Antikörper unter denen sich auch sog. praeformierte Antikörper einreihen, zeigen zwar gegenüber den Kontrollen bei IgM-Antikörpern erhöhte Werte, erreichen aber niemals Werte wie bei IgG-Antikörpern. Erhöhte IgM-Titer werden vor allem bei Herpes Infektionen gefunden.

5.2.6. $F(ab)_2$ Antikörper

Mit dem Nachweis von $F(ab)_2$ sollte die Escape Theorie geprüft werden, die von Witz diskutiert wird. Er schreibt Tumorzellen die Fähigkeit zu, an der Oberfläche gebundene Antikörper zu zerstören. Dies erfolgt in Form einer Abspaltung des Fc-Anteils des Gesamtantikörpers. Dadurch verlieren die Antikörper die Möglichkeit, Complement zu binden und damit ihre lytischen Fähigkeiten. Die Tumorzelle wird so durch den noch haftenden körpereigenen und damit nicht antigen wirkenden $F(ab)_2$ Teil vor der weiteren Immunabwehr geschützt. Der Nachweis von $F(ab)_2$ in unseren Ergebnissen auf den Tumorzellen zieht auch diese Theorie als ein Teilphänomen im Rahmen der Escape-Mechanismen in Betracht (15, 41, 64).

5.2.7. Immuncytologie an Abstrichen

Da der größte Anteil der Antikörper gegen Tonsillencarcinomzellen aus der IgG-Klasse stammt, schien es gerechtfertigt, diese zur Untersuchung von Tumorzellantigenen auf Abstrichpraeparaten zu verwenden. Anfänglich zeigte sich eine starke Verunreinigung der Abstrichpraeparate durch Schleim und Bakterien, womit gerade dadurch die Erhöhung der unspezifischen Fluoreszenz erfolgen kann. Bakterien, Pilze und andere Verunreinigungen sind ein nicht tumorspezifisches Material, besitzen aber Antigenität und fluoreszieren. Andererseits erlaubt hier eine sicher positive Fluoreszenz von mindestens 20 % positiven Tumorzellen eine genügend sichere und spezifische Aussage. Da bei der Kontrollgruppe der IgG-Fluoreszenz nur 3 - 6 % der Zellen positiv waren, darf zumindest bei einem Prozentsatz von über 20 % positiver Zellen angenommen werden, daß es sich um eine spezifische Fluoreszenz handelt, die somit spezifisches Tumorantigen nachweist.

Im Laufe der Untersuchungen wurden Antikörper gegen Zellen auf den Abstrichpraeparaten bei 32 Abstrichen beobachtet. Bei 31 positiven Abstrichen waren die Patienten entweder noch in Behandlung oder es entwickelte sich später ein Rezidiv. Dies beweist, daß bei einer positiven Beurteilung, d.h. bei Auftreten von spezifischen Reaktionen von Serum-Antikörpern mit Zellantigenen auf den Abstrichpraeparaten, eine Rezidivierung des Tumors vermutet werden kann, falls es sich nicht noch um den Primärtumor bei cytostatischen Therapien handelt.

Tumorzellen können durchschnittlich 6 Monate vor der klinischen Diagnosestellung mittels Antikörper und der Immunfluoreszenzmethode nachgewiesen werden. Diese Antikörper blieben durchgehend nachweisbar. Dadurch ist die Möglichkeit gegeben, diese Patientengruppe speziell zu überwachen und somit vor allem ein Rezidiv früher zu erkennen, als dies mit rein klinischen Methoden möglich ist. Damit können die Patienten sofort einer effektiveren Therapie zugeführt werden.

Da eine spezifische Immunfluoreszenz weder bei gesunden Personen noch bei Tumorpatienten auf der kontralateralen gesunden Seite gefunden wird, ist zunächst immer an eine Rezidivierung zu denken. Tritt auf der kontralateralen Seite eine positive Fluoreszenz auf, so muß auch hier ein Tumorverdacht geäußert werden, zumal Tonsillencarcinome gehäuft auch kontralateral rezidivieren können.

Es muß aber auch die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, daß es sich um Tumorzellen handelt, die sich vom Primärtumor losgelöst haben und sich in der Mundhöhle verteilen.

5.2.8. Tumorantigene und Antikörper

Vor allem bei Bronchialcarcinomen (57, 74, 120) Melanomen (71) und Nieren- sowie Blasencarcinomen (38, 54), aber auch bei Nasopharynxcarcinomen (1), wurden mit verschiedenen Methoden bereits Tumorassoziierte Antigene auf den Oberflächenmembranen von Tumorzellen nachgewiesen. Ebenso wurden bei verschiedenen Tumoren im Serum der Patienten Tumorantikörper beschrieben (34, 46, 52, 69, 90, 93, 105) Antikörper gegen Plattenepithelcarcinome des Nasopharynx wurden erstmals von Popovic beschrieben (96).

Speziell mit der Immunfluoreszenzmethode konnten Antikörper in Seren von Patienten mit Blasen- und Nierencarcinomen (27), bei Melanomen (82) und auch bei experimentellen Tumoren (21) nachgewiesen werden.

Bei den Antikörpern gegen Blasencarcinomzellen handelt es sich vornehmlich um Antikörper der IgG-Klasse (27). Nach unseren Studien nehmen IgG-Antikörper bei der humoralen Abwehr gegen Tonsillencarcinome den größten Anteil der Antikörper ein.

Antikörper der IgA- und IgM-Klasse wurden nur in geringen Mengen gefunden. Die IgG-Antikörper sind nicht identisch mit Antikörpern gegen Herpes oder EBV-Antigene.

Auf Grund dieser Beobachtungen und unter Miteinbeziehung der anamnestischen Faktoren, wie starkes Rauchen und Alkoholabusus darf das Tonsillencarcinom fast als ein chemisch induziertes Carcinom gelten. Von den experimentell chemisch induzierten Carcinomen ist bekannt, daß in deren Entwicklung Tumorassoziierte Antigene auftreten, die auch auf der Membranoberfläche exprimiert werden (9). Allerdings ist die Natur und die spezielle Wirkungsweise dieser Tumorantigene und der vom Immunsystem produzierten Antikörper bisher umstritten (54, 72).

Gerade weil das Tonsillencarcinom durch sein Wachstum auf bzw. in der Tonsille einen besonders engen und direkten Kontakt mit dem Immunsystem besitzt, sollte es besser möglich sein, die Interaktionen zwischen Tumor und Immunabwehr zu beobachten. Man nimmt, wie bereits gesagt, an, daß der Tumor Antigene entwickelt, die zu einer Bildung von Antikörpern führt. Durch die enge Beziehung werden beim Tonsillencarcinom sehr früh und in allen Fällen Antikörper gebildet. Dies dürfte evtl. der Grund für das schnelle Wachstum und die schlechte Prognose dieses Tumor sein. Antikörper vermögen im Serum tumorspezifisches lösliches Antigen zu binden oder am Tumor selbst Reaktionen mit den Oberflächenantigenen einzugehen, ohne allerdings eine Lyse der Tumorzellen herbeiführen zu können. Solche das Immunsystem blockierende Faktoren, konnten bereits anderweitig nachgewiesen werden (45, 112). Sjörgren identifizierte im Serum circulierende Ag/Ak-Komplexe als Faktoren, die sich an Lymphocyten binden können und deren Funktion behindern (51, 103). Durch die enge lokale Bindung an das Immunsystem ist es deshalb denkbar, daß solche blockierende Antikörper besonders frühzeitig und gehäuft gebildet werden. Auf diese Weise kann sich das Tonsillencarcinom, hat es einmal die ersten Barrieren des Immunsystems überwunden, besonders schnell wachsen.

5.3. Suppressorzellaktivität, T-B-Zellverteilung

Bei Untersuchungen an Carcinompatienten wird ein besonderes Gewicht auf die Untersuchung der immunologischen Abwehrlage und deren Veränderung im Rahmen der Tumorentstehung gelegt. Dabei wurden zunächst vor allem die quantitative Erforschung der T- und B-Zellpopulationen, sowie das Zusammenwirken dieser Zellpopulationen mit Makrophagen und Killerzellen bei der Tumorabwehr in den Vordergrund gestellt. Immer stärker rücken nun die funktionellen Aufgaben dieser Zellpopulationen und deren Wechselwirkungen in den Mittelpunkt wissenschaftlichen Interesses. Mit Hilfe von Hauttesten mit Dinitrochlorbenzol (DNCB) oder Antigenen wie Tuberkulin, Trichophytin oder Candidin kann die Funktion des Immunsystems getestet werden. Durch spezielle Tests können nun diese Funktionen und Aufgaben einzelner Lymphocytenpopulationen im einzelnen untersucht werden.

Im Suppressorzelltest sollte insbesondere die Funktion und die Interaktionen während der Tumorentstehung von jenen Lymphocyten untersucht werden, die auf das Immunsystem einen suppressiven Einfluß haben und die der T-Zellpopulation zugerechnet werden.

Der Testansatz geht dabei von der Annahme aus, daß im lymphatischen System Vorläuferzellen dieser Suppressorzellen existieren (7, 48, 58) oder nach einer Aktivierung mit Con A (35) gemessen werden. Als optimale Aktivierungszeit wurden 2 Tage bestimmt. Nach 3 - 4 Tagen geht die suppressive Aktivität in diesen Kulturen wieder zurück (48). Da eine Zugabe von Mitomycin C in diese Kulturen die suppressive Aktivität nicht herabsetzt, muß angenommen werden, daß eine Proliferation dieser Zellen nicht notwendig ist, um eine verstärkte suppressive Wirkung ausüben zu können.

Diese Con A aktivierten Suppressorzellen vermögen in Kulturen die durch Mitogene angeregte Generation allogener Lymphocyten zu unterdrücken. Diese suppressive Wirkung tritt aber nur bei proliferierenden Zellen und bei Generation von cytotoxischen Zellen auf, wohingegen die Funktion von "Killerzellen" nicht mehr beeinflußt werden kann (58). Um eine weitere Stimulation der Suppressorzellen zu verhindern und um nur deren Funktion und Einfluß auf die Targetzellen zu sehen, wurden die Suppressorzellen mit 2000 rad bestrahlt. Der gleiche Effekt wird von anderen Untersuchern durch Mitomycin C erzielt (5, 32, 99). Als Zellmitogene wurden PHA und Con A verwendet, denen eine relativ selektive Wirkung auf T-Zellen zugeschrieben wird (7, 58, 127). Entsprechend den Angaben anderer Autoren wurde für die Inkubationszeit der Mitogenstimulation 3 Tage gewählt, für die MLC hingegen 5 Tage (32, 58, 99). Die quantitative DNA Synthese als Ausdruck der mitogenen Aktivität der Targetzellen, bzw. deren Verminderung wurde durch den Einbau von radioaktivem ^{3}H-Thymidin gemessen (32, 58, 99, 127).

Auch radioaktives Leucin (127) kann verwendet werden. Die Aktivität cytotoxischer Zellen bzw. deren Verminderung kann aber auch im Chrom-Release Test gemessen werden (3). Die Berechnung der suppressiven Aktivität erfolgte nach Angaben von Hammer und Lewis (48). Unterschiede ergeben sich bei der Angabe der Höhe der suppressiven Aktivität auch in der Literatur. So gibt Shou (128) die suppressive Aktivität als die Verminderung der Zellproliferation bei Inkubation von Con A stimulierten Lymphocyten (aktivierte Suppressorzellen) gegenüber der Inkubation von Lymphocyten, die nicht mit Con A stimuliert wurden, an. Unsere Angaben dagegen beziehen sich auf eine mit und ohne Con A inkubierte Kontrolllymphocyten gesunder Personen.

5.3.2. Die Natur der Suppressorzellen

Bisher ist umstritten welchen Zellpopulationen eine suppressive Aktivität zugeschrieben werden kann. Dabei ist eher anzunehmen, daß mehrere Lymphocytenpopulationen in verschiedenen immunologischen Abwehrlagen unabhängig von einander suppressive Wirkungen zeigen können. Welche Zellpopulation speziell aktiviert wird, könnte von jenen Faktoren abhängen, die zu den Abwehrreaktionen des Immunsystems führten.

Gorczynski et al. wiesen auf suppressive Aktivitäten von B-Zellen hin, die in virus-induzierten Mäusesarkomen nachgewiesen wurden (45). Kirchner dagegen schrieb diese Funktionen Makrophagen zu (66, 67, 85). Bei diesen non-T-Suppressorfunktionen handelt es sich um Reaktionen, die sehr unspezifisch das Immunsystem unterdrücken. Diese Art der Immunsuppression kann auch bei Nicht-Tumorpatienten nachgewiesen werden, so z.B. bei graft versus host Reaktionen (43). Es wird diskutiert, ob es sich im Falle der Makrophagen um eine echte suppressive Funktion handelt, oder ob es lediglich ein Effekt eines vermehrten Vorhandenseins von Makrophagen ist.

Speziell aber bei Tumorpatienten spielen Suppressorzellen aus der T-Zellpopulation die bedeutendste Rolle. Diese Suppressor-T-Zellen von denen auch Vorläuferzellen existieren (40, 47, 108) sind in ihren Funktionen ebenfalls teilweise unspezifisch (113). Eine besondere Rolle bei Interaktionen mit dem Tumor spielen die spezifisch reagierenden Suppressor-T-Zellen (17). Diese T-Zellen vermögen selektiv die Produktion von Immunglobulinklassen zu beeinflussen (18, 55, 109, 114). Die Suppression kann sich gegen die Produktion von allen Immunglobulinklassen (18, 114) gegen einzelne Immunglobuline (109, 115) oder auch nur gegen Immunglobulinallotypen richten (55).

In gleicher Weise vermögen antigenspezifische T-Suppressorzellen, wie in Tierversuchen nachgewiesen wurde, die zellulären Schenkel der Immunantwort beeinflussen, indem sie eine Verminderung der T-Zelltoxicität herbeiführen. Diese Wirkung beruht nicht auf einer Hemmung der Toxicität schon vorhandener Lymphocyten, sondern auf der Hemmung der Generation cytotoxisch wirkender Lymphocyten (58).

In diesen Fällen wurde die Suppressor-T-Zelle als eine nicht cytotoxisch wirkende Zelle beschrieben (3). Ebenso wie Suppressorzellen den efferenten Schenkel der Immunabwehr zu beeinflussen vermögen, sind sie auch im Stande, die afferenten Schenkel der Immunabwehr zu beeinflussen.

Auf welche Weise diese Suppressorzellen bei Tumorpatienten aktiviert werden, kann bisher nicht gesagt werden. Broder et al. (17) gibt bei Tumorpatienten immunsuppressiv wirkende Serumfaktoren an, die mit B-Zellen interagieren. Diese B-Zellen wiederum vermögen dann Suppressorzellen zu aktivieren (87).

Die Wirkungsweise der Suppressorzellen ist nicht bekannt. Von einigen Autoren werden lösliche suppressiv wirkende Faktoren beschrieben, die aus Suppressor-T-Zellen stammen (95, 106). Diese Faktoren sind genetisch auf der I-J Region des H-2 Komplexes bzw. auch auf der I-C Reagion kodiert (98).

Demgegenüber benötigen Makrophagen-Suppressorzellen den direkten Kontakt mit den Targetzellen, um ihre suppressive Aktivität ausüben zu können (95).

5.3.3. B-T-Zelltest

Die Bestimmung der T-Zellen erfolgte nach Angaben von Jondal et al (101). Als T-Zellen wurden nur jene Zellen bestimmt, die mindestens 3 Schaferythrocyten anlagerten, während sog. kleine Rosetten mit 2 Schaferythrocyten (117) nicht gezählt wurden. Bei dieser Methodik ist es möglich, daß z.B. durch zu heftiges Schütteln nur leicht gebundene Schaferythrocyten losgelöst werden, wodurch eine erniedrigte T-Zellzahl resultiert.

Die B-Zellpopulation wurde durch die direkte Immunfluoreszenz nach der Methode von Wick durchgeführt(122). Durch die Verwendung von Anti-Gamma-Globulin kann die B-Zellpopulation sehr exakt bestimmt werden.

Da diese Methode häufig verwendet wird, erlaubt sie einen Vergleich mit anderen Ergebnissen.

5.3.4. Änderungen des Immunsystems bei Carcinompatienten

Bei der Messung der Suppressoraktivität in den Kontrollgruppen ergaben sich Werte zwischen 0 und 11 %. Diese Werte liegen innerhalb der angegebenen Grenzbereiche von 0 bis -20% (121). Ein Grund für diese relativ hohen Schwankungsbereiche von Normalpersonen ist der Einfluß von Alter und evtl. vorhandenen aber nicht erkennbaren Veränderungen des Immunsystems durch Krankheiten, sowie auch von der Reinheit der Zellsuspensionen. Sowohl von Deegan als auch von Elhilali werden zwei Normalgruppen in der PHA-Stimulation angegeben: "low-responder" umfassen vorzüglich Personen über 50 Jahre, "high-responder" dagegen vorwiegend Personen unter 50 Jahre (65, 113).

In der Gesamtgruppe der Tonsillencarcinompatienten läßt sich vor der Therapie vor allem bei den aktivierten Lymphocyten eine gesteigerte Suppressoraktivität erkennen. Ähnliche Ergebnisse findet Golub et al. bei Studien an anderen Tumoren wie Melanomen, Sarkomen und Carcinomen. Am stärksten wird das Immunsystem, wie in DNCB-Testen nachgewiesen, bei Carcinomen unterdrückt (29).

Obwohl bei den meisten Patienten mit Tumorbefall eine Suppressorzellaktivität nachweisbar ist, zeigt eine Aufschlüsselung der Patienten nach Tumorstadien, daß es sich um eine inhomogene Patientengruppe handelt. So führten auch frühere PHA-Stimulationen bei Patienten mit Carcinomen in der Kopf-Hals-Region zu unterschiedlichen Ergebnissen. Wanebo et al. (117) sahen einen Abfall der PHA-Stimulation mit einem Anstieg der lokalen Tumorausdehnung korreliert.

Bei konstanter lokaler Tumorausdehnung waren Patienten mit Lymphknotenmetastasen schlechter stimulierbar als Patienten ohne Lymphknotenmetastasen. Hammer et al. (121) sahen bei Blasentumoren mit Stadium I meist noch eine normale Stimulationsfähigkeit der Lymphocyten. Mit einer Progression des Tumors zeigte sich aber eine ansteigende suppressive Aktivität.

Unsere Ergebnisse zeigen bei Tumorpatienten ohne Lymphknotenmetastasen überraschenderweise eine sehr hohe suppressive Aktivität, während bei N 1-Tumoren annähernd wieder Normalwerte erreicht sind. Mit dem Anstieg der Lymphknotenmetastasierung zeigt sich wieder eine zunehmende Suppressoraktivität. Diese Ergebnisse stimmen mit Beobachtungen von Deegan überein (32). Die Patientengruppe ohne Lymphknotenmetastasen hat allerdings einen sehr großen lokalen Tumor aufzuweisen, so daß sich die erhöhte Suppressoraktivität evtl. durch die lokale Tumorgröße erklären ließe. Hammer et al (121) und andere Autoren finden eine enge Korrelation von Tumorgröße und Suppressoraktivität. Eine ähnliche, aber nicht so deutliche Korrelation findet sich auch bei Tonsillencarcinompatienten (48).

Eine Korrelation von Suppressorzellaktivität mit der T- und B-Zellverteilung konnte von uns in Bezug auf die einzelnen Stadien nicht gefunden werden. Sowohl mit als auch ohne Lymphknotenmetastasen, sowie unabhängig von der lokalen Tumorausdehnung, befinden sich diese Zellpopulationen im Bereich der Normalwerte. Die T-Zellpopulation ist innerhalb der Normalwerte immer erniedrigt.

Erniedrigte T-Zellwerte treten bei Patienten mit Hals- Kopf-Carcinomen auf, wobei auch teilweise ein verstärkter T-Zellabfall mit einer Zunahme des Tumors korreliert. Oftmals wurden diese Teste allerdings erst nach Therapiebeginn durchgeführt, so daß auch ein therapeutischer Effekt nicht ausgeschlossen werden kann (31, 88, 117).

Werden Lymphocyten, die aus den befallenen Lymphknoten separiert wurden, auf ihre suppressive Aktivität hin untersucht, so zeigt sich hier vor allem in der MLC eine deutlich erhöhte Suppressoraktivität. Dies kann als Hinweis gewertet werden, daß bei einer Tumorentstehung bzw. bei einer Lymphknoteninfiltration durch einen Tumor sich das immunologische System lokal konzentriert und somit auch die immunologischen Regulationsmechanismen lokal verstärkt werden.

Insbesondere die Umgebung des Tumors stellt beim Tonsillencarcinom und bei Lymphknotenmetastasen den Ort der intensivsten Wechselwirkung zwischen Tumor und Immunsystem dar. Deshalb treten hier auch die Regulationsmechanismen wie eine verstärkte Suppressorzellaktivität am deutlichsten auf.

Dies erklärt auch die stark erniedrigte T-Zellpopulation in Tonsille und Lymphknoten, wo der afferente als auch der efferente Schenkel der zellulären Immunantwort durch die starke Suppressoraktivität blockiert wird.

Umgekehrt proportional zum T-Zellabfall steigen die B-Zellen an. Es kann nicht erklärt werden, ob es sich um eine echte B-Zellerhöhung handelt, die aus einer Stimulation durch den lokalen Tumoreinfluß hervorgeht, oder um einen rechnerischen Effekt, der sich durch die prozentuale Angabe des B-Zellanteils an den Gesamtlymphocyten ergibt, wenn die T-Zellen stark vermindert sind.

5.3.5. Änderungen der immunologischen Abwehrlage nach Therapie

Vor allem von Olkowski (88, 89) aber auch von anderen (102) wurden die Therapieeinflüsse auf die immunologische Abwehr beschrieben. Das auffälligste Merkmal, sowohl in der Bestrahlungstherapie als auch bei der operativen Behandlung ist ein Anstieg der T-Zellpopulation. Dieser Anstieg erfolgte meist 2 Wochen nach Beginn der Therapie. Ähnliche Auswirkungen auf die T-Zellen sehen wir nur bei der Gruppe der bestrahlten Patienten. Die Gruppe der cytostatisch behandelten Patienten war zu klein, um eine Aussage machen zu können. Ein posttherapeutischer T-Zell-Anstieg kann als positive Folge angesehen werden, da damit ein verstärktes Wiedereinsetzen der Immunabwehr angezeigt wird. Dies kann zum Teil auf eine Reduktion der Tumormasse und damit der Antigenmenge zurückgeführt werden, zum Teil aber werden Veränderungen in den Regulatior mechanismen des Immunsystems durch die Therapie hervorgerufen.

Broder und andere beschreiben einen postoperativen Abfall der Suppressorzellaktivität, die durch einen Untergang oder eine Inaktivierung relativ kurzlebiger Suppressorzellen hervorgerufen wird (17). Eine solche Beobachtung konnte in unserem Patientengut nicht gemacht werden.

Nach einer mono-Bestrahlung fällt diese Suppressoraktivität deutlich ab. Als gleichzeitiger Effekt niedrigerer Suppression wird auch ein T-Zellanstieg gesehen. Dies kann auf eine Reduktion der Tumormasse und gleichzeitiger Erholung des Immunsystems zurückgeführt werden. Einige Autoren schreiben aber der in vivo Bestrahlung per se eine Potenzierung des Immunsystems durch eine Zerstörung von Suppressorzellen zu (4, 107).

Ein Übergang von starker Suppression vor der Therapie in eine teilweise Stimulation nach der Therapie findet bei der cytostatischen Therapie mit dem Bitter-Schema statt. Dieser Effekt wird der starken Beeinträchtigung der Suppressorzellen durch Cytostatika zugeschrieben.

Eine Steigerung der humoralen Immunabwehr fand Chanmougan et al. (25) nach der Gabe von 6-Merkapto-purinen. Ähnliche Effekte vor allem auf dem zellulären Schenkel wurden nach der Gabe von Cyclophosphamid gesehen (6, 28).

Dadurch würde die Prognose dieser meist weit fortgeschrittenen Tumoren verbessert werden können, da Cytostatika sowohl den Tumor selbst zerstören, als auch durch Herabsetzung der Suppressoraktivität die Immunabwehr stärken. Bisher konnte zwar durch BCG oder Corynebakterium parvum eine allerdings unspezifische Steigerung des Immunsystems herbeigeführt werden, aber durch diese Unspezifität werden ebenso auch die Suppressorzellen aktiviert (16, 65).

5.3.6. Das immunologische System bei Patienten mit unterschiedlichem Krankeitsverlauf

Immunologische Parameter können zur Therapiekontrolle sowie zur Patientenüberwachung eingesetzt werden. Dellon et al (33) beobachteten nach einem Abfall der absoluten T-Zellzahl nach 10 Wochen eine Metastasierung des Tumors. Eine ähnliche Beobachtung wurde von Olkowski bei bestrahlten Patienten gemacht (88). Bei Tumorträgern mit einem späteren Rezidiv zeigte sich in unserem Patientengut posttherapeutisch ein T-Zellanteil, der an der unteren Normalgrenze schwankte. Die Patientengruppe mit späteren Rezidiv unterschied sich durch eine deutlich erhöhte Suppressorzellaktivität von Patienten ohne Rezidiv.

Da aber durch die Zusammenfassung der Patienten zu Gruppen individuelle Informationen verlorengehen, sollte bei einem immunologischen Monitoring stets der Einzelpatient beobachtet werden. Durch die Beobachtung der individuellen immunologischen Daten und deren Entwicklung kann zusammen mit dem klinischen Erscheinungsbild des Patienten eine sorgfältigere Darstellung sowohl der immunologischen Abwehr des Patienten als auch der Prognose des Tumors erreicht werden.

Die Patientin E.T. befand sich 12 Monate nach der Operation in einem sehr schlechten Allgemeinzustand. Betrachtet man die immunologischen Daten, so zeigen sich nach der Operation Normalwerte. Sehr früh aber setzte wieder eine verstärkte suppressive Aktivität ein. Gleichzeitig fielen auch die T-Zellen ab, während die B-Zellen anstiegen.

Aufgrund der immunologischen Veränderungen deutete sich eine Rezidivierung des Tumors an, obwohl sich der Allgemeinzustand der Patientin parallel zu diesen immunologischen Daten verschlechtert hat und auf eine Rezidivierung hinwies, konnte klinisch noch kein Rezidiv nachgewiesen werden.

Anders stellt sich das immunologische Bild der Patientin M.B. dar. Ihre anfänglich sehr hohe Suppressorzellaktivität sank sehr bald nach der Bestrahlungsbehandlung. Die Erholung des Immunsystems wird parallel in einem Anstieg der T-Zellen deutlich. Die Patientin zeigt weiterhin normale immunologische Werte. Der Allgemeinzustand besserte sich nach der Bestrahlung zunehmend, gleichzeitig kann auch eine Rezidivierung des Tumors verneint werden.

Patient J.F. wurde im Alter von 46 Jahren an einem T3 N1 Tumor der Tonsille operiert. Zu diesem Zeitpunkt zeigte sich keine Suppressorzellaktivität. Bereits nach 2 Monaten trat wieder eine Suppressorzellaktivität auf. Im weiteren Verlauf verstärkte sich die Suppression. Während des gesamten postoperativen Verlaufes wurde eine erheblich erniedrigte T-Zellzahl gesehen, während die B-Zellen anstiegen. 4 Monate nach der Therapie wurden homolateral positive Fluoreszenzabstriche nachgewiesen. Tatsächlich wurde nach 4 Monaten nach dem positiven Abstrich ein homolaterales Rezidiv diagnostiziert. Zweifellos war aber die Entwicklung eines Rezidivtumors bereits zum Zeitpunkt des ersten positiven Abstrichs in Betracht zu ziehen. Dieser deutete auf das Auftreten von antigenem Material in der Tonsillenloge hin. Da im Serum immer noch Antikörper gegen dieses Antigen vorhanden war, mußte das immunologische Abwehrsystem aktiv geblieben sein. Als Gegenreaktion gegen eine überschießende Immunreaktion wurde eine verstärkte Suppressorzellaktivität gemessen. Durch Beobachtung von Suppressorzellen, T- und B-Zellverteilung kann zusammen mit dem Nachweis von Antigen auf den Abstrichen, bzw. Antikörper im Serum der Patienten eine Rezidivierung des Tumors früher erkannt werden, als dies von der Klinik her allein möglich ist.

6. Zusammenfassung

6.1. Im Serum der Patienten treten Antikörper gegen Tumorzellen auf. Diese Antikörper gehören überwiegend der IgG-Klasse an. Hinsichtlich ihrer Spezifität werden gruppenspezifisch und individualspezifisch reagieren Antikörper unterschieden.

6.2. Tumorzellen, die aus Lymphknotenmetastasen separiert werden, weisen eine geringere Antigenität auf als Tumorzellen, die vom Primärtumor stammen.

6.3. Mittels der Immuncytologie der Abstriche aus dem Tumorgebiet wurden Tumorzellen durchschnittlich 6 Monate früher nachgewiesen, als das Rezidiv klinisch zu diagnostizieren war. Diese Methode kann Hinweise geben, diese Tumorpatienten enger zu überwachen, um Rezidive frühzeitiger erkennen zu können.

6.4. Alle Tumorpatienten weisen eine verstärkte Suppressorzellaktivität auf. Diese Aktivität wird durch die Behandlungsart in unterschiedlichem Maße abgeschwächt teils ganz aufgehoben. Die Entfernung des Primärtumors hat somit einen günstigen Einfluß auf die immunologische Balance, indem zum Teil die Suppressio der Abwehrkräfte aufgehoben wird.

6.5. Die Erforschung der immunologischen Grundlagen in enger Zusammenarbeit mit der Klinik ergibt eine weitere Möglichkeit zur besseren Überwachung und präziseren Prognosestellung des einzelnen Patienten.

6.6. Dabei dürfen aber nicht einzelne immunologische Daten verwendet werden, sondern nur die Betrachtung des Immunstatus von Suppressorzellen, T- und B-Zellen zusammen mit den immuncytologischen Abstrichergebnissen und den Antikörpern im Serum können Hinweise für den Krankheitsverlauf des einzelnen Patienten geben.

7. Literatur

1) Adly N., Ibrahin, R.A., Robinson, Lee Marr: Tumor Associated Antigens in Cervical Cancer Tissues and in Sera From Patients With Cervical Cancer or With Head and Neck Cancer INCL, Vol. 63 No. 2 August 1979

2) Akantha K.Murthy: Is Contralateral Neck Treatment Necessary in Early Carcinoma of the Tonsil Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., Vol. 6 pp. 91 - 94

3) Al-Adra, A.R., Pilarski, L.M.: Antigen-specific suppression of cytotoxic T cellresponses in mice. Suppressor T-cells are not cytotoxic cells Europ. J. Immunol. 8, 504 - 511, 1978

4) Anderson, R.E., Warner, N.L.: Ionizing radiation and the immune response Adv. Immunol. 24, 215 - 335, 1976

5) Argyris, B.F. Suppressor activity in the spleen of neonatal mice Cell. Immun. 36, 354 - 362, 1978

6) Askenese, P.W., Hayden, B.J., Gershon, R.K.: Augmentation of delayed-type hypersensivity by doses of cyclophosphamid which do not affect antibody responses J. Exp. Med. 141, 697 - 702, 1975

7) Asma, G.E.M., Schuit, H.R.E.: The Determination of Numbers of T- and B-Lymphocyten in the Blood of children and Adults by the Direct Immunofluorescence Technique. Clin. Exp. Immunol. 29: 286 - 294 1977

8) Baker, R.R. and Weiner: Clinical managment of tonsillar carcinoma
Surg. Gynec. Obst., 1965, 121, 1035 - 1038

9) Baldwin, R.W.: Tumor Spezific Antigens Associated with Chemically Induced Tumors
Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol. XI 593 (970)

10) Banoczy, J., Sugar, L.: Longitudinal studies in oral leukoplakias
J. oral Path. I (1972) 265 - 272

11) Barrs et al.: Squamous Carcinoma of the Tonsil and Tongue-Base-Region. Arch. Otolaryngol. Vol 105 Aug. 1979

12) Berendes J., Link R., Zöllner F.: Hals- Nasen- Ohrenheilkunde in Praxis und Klinik
Georg Thieme-Verlag Stuttgart 1978

13) Boenninghaus H.G.: Hals- Nasen- Ohrenheilkunde
Springer-Verlag 1976

14) Böyum, A.: Separation of Leukocytes from Blood and Bone Marrow
Scand. J. Clin. Lab. Invest., Suppl. 97:31 (1968)

15) Broder, S., Whitehouse, F.jr.: Immunologic Enhancement of Tumor Xenografts by Pepsin Degrated Immunoglobulin
Science 162: 1494 - 1495 (1968)

16) Broder, S., Muul, L., Waldmann, M.D.: Suppressor Cells in Neoplastic Disease
J. Natl. Cancer Inst. Vol. 61, No. 1
July 1978

17) Broder S., Waldmann, T.A.: The Suppressor-Cell Network in Cancer
New England Journal of. Med. 299: 1281 - 1284
1335 - 1341 (1978)

18) Broder, S., Humphrey, R., Drum, M.: Impaired synthesis of polyclonal (non-paraprotein) immunglobulins by circulating lymphocytes from patients with multiple myeloma.

19) Burkhardt, A.: Der Mundhöhlenkrebs und seine Vorstadien-Ultrastrukturelle und immunpathologische Aspekte, Veröffentlichung aus der Pathologie. G. Fischer, Stuttgart - New-York (1980)

20) Burns, F.D., Marrack, P.C., et al.: T-Derived Lymphocytes of the Mouse IV Nature of Spontaneously Induced Suppressor Cells. J. Immunol. 114, 1345 (1975)

21) Byers, V.S., Levin, A.S., Johnston, J.O., Hackett, A.J.: Quantitativ Immunofluorescence Studies of the Tumor Antigenbearing Cells in Giant Cell Tumor of Bone and Osteogenic Sarcoma Cancer Research 35, 2520 - 2531 (Sept. 1975)

22) Calamel: Carcinoma of tonsil: Comparison of Surgical and Radiation Therapie. Am J. Surg. 114: 582 - 586, 1967

23) Cancer unit, WHO: Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precacer, Oral Surg. 46 (1978) 518 - 539

24) Cardinale: Radiation Therapie of Carcinoma of the Tonsil Cancer 39: 604 - 608, 1977

25) Chanmougan, D., Schwartz, R.S.: Enhancement of antibody synthesis by 6-mercaptopurine J. Exp. Med. 124, 363 - 378, 1966

26) Chaussy, C., Weinfurtner,F., Hammer, C., Brendel, W.: Detection of Human Bladder Cancer Antigen by Autologous and Allogenic Patient Sera XV th Congress of the European Society for Surgical Research. Brussels, Belgium, April 30 - May 3, 1980

27) Caussy, C., Weinfurtner, F., Hammer, C., Brendel, W.: Detection of Human Bladder Antigen by Autologous and Allogenic Patient Sera XV th Congress of the European Society for Surgical Research Brussels, Belgium, April 30 - May 3, 1980

28) Chiorazzi, N., Fox, D.A., Katz, D.H.: Hapten-spezific IgE antibody response in mice. Selectiv enhancement of IgE antibody production by low dosis of X-radiation and by cyclopospham id J. Immunol. 117, 1629 - 1637, 1876

29) Colub, S.H., O´Connell, T.X., Morton, D.L.: Correlation of in vivo and in vitro assays of immunocompetence in cancer patients Cancer Research 34, 1833 - 1837, 1974

30) Coons, A.H., Kaplan, M.H.: Localization of Antigen in Tissue Cells II. Improvements in a Method for the Detection of Antigen by Means of Fluorescent Antibody J. of Exp. Med. 91 : 1 (1950)

31) Deegan, M.J., Coulthard, S.W.: Spontaneous rosette formation and rosett inhibition assays in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck Cancer 39, 2137 - 2141, 1977

32) Deegan, M.J., Coulthard, S.W., Qualman, S.J., et al.: A correlation Analysis of in Vitro Parameters of Cellular Immunity in Patients with Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck Cancer Research, 37, 4475 - 4481, December 1977

33) Dellon, A.L., Potvin, C., Chretien, P.B.: Thymus dependent lymphocyte levels in bronchogenic carcinoma: correlation with histology, clinical stage and prognosis after surgical treatment. Cancer 35 : 687 (1975)

34) De The, G., Sohier, R., Ho, J.H.C., Freund, R.: Nasopharyngeal Carcinoma. IV. Evolution of Complement-Fixing Antibodies During the Course of the Disease Ing. J. Cancer 12, 368 (1973)

35) Dutton, R.W.: Inhibitory and Stimulatory Effects of Concanavalin A on the Response of Mouse Spleen Cell Suspensions to Antigen I. Characterization of the Inhibitory Cell Activity J. Exp. Med., 136, 1445 (1972)

36) Edström, St.: Carcinoma of the tonsillar region. Aspects on treatment modalities with reference to a study on patients treated by irradiation The Laryngoskop, Vol. LXXXVIII, No. 6, pp. 1019 - 1023, June 1978

37) Elhilali, M., Britton, S., Brosman, S., Fahey, J.L.: Critical Evaluation of Lymphocyte Funktions in Urological Cancer Patients. Cancer Research, 36, 132 - 137, 1976

38) Faulkoner, R.J., Rosato, F.E., Wright, G.L., Schellhammer, P.: Detektion and isolation of antigens associated with renal cell carcinoma Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 19, 308 (1978)

39) Fayos, J.V., Lampe, I.: I. Radiation therapy of carcinoma of tonsillar region. Am. J. Roentgenol., Rad. Therapy and Nuclear Med. 1971, III, 85 - 94

40) Feldman, M., Beverley, PCL., et al.: T-T interactions in the induction of suppressor and helper cells: analysis of membrane phenotype of precursors and amplifier cells J. Exp. Med. 145: 793 - 801 (1977)

41) Fish, F., Witz, J.P., Klein, G.: Tumor-bound Immunoglobulin Disappearing from the Surface of coated Tumor Cells Clin. Exp. Immunol.: 355 - 365 (1974)

42) Fleming, P.M., et al.: Carcinoma of the tonsil. Surg. Clin. M. Am. 56: 125 - 136, (1976)

43) Gershon, R.K.: A disquisition on suppressiv T cell Transplant. Rev. 26, 170 (1975)

44) Glanzmann, Ch.: Ergebnisse der Radiotherapie des Tonsillencarcinom bei 161 Patienten aus dem Behandlungszeitraum von 1950 bis 1976 Strahlentherapie 154 (1978) 753 - 757 (Nr. 11)

45) Gorczynski, R.M.: Immunity of murine sarcomavirus-induced tumors. II. Suppression of T-cell mediated immunity by cells of progressor animals. J. Immunol. 112: 1826 - 1838 (1974)

46) Gofny, M.K., Jezewska,E., Krzyskó, R.: J.: Anti-Tumor Antibodies in Lung Cancer Patients. Immunofluoreszenz Study Using Various Indikator Cells Neoplasma 26, 6 (1979)

47) Hammer, C., Mang, W., Gruber, F., Brendel, W.: Suppressor cell acitivity in tonsillar carcinoma during relaps and metastatic spread XV th Congress of the European Society for surgical Research Brussels, Belgium, April 30 - May 3, (1980)

48) Hammer, C., Jerry, L.M., Lewis, M.W.: Suppressor cell activity of peripheral blood and lymphnode lymphocytes in cancer patients. Immunotherapy of Malignant Diseases. Ed. H. Rainer, F.K. Schattauer Verl. Stuttgart - New-York ppm. 12 (1978)

49) Hardinger, M.: Cancer of the floor of the mouth: clinical features and results of treatment. Clinical Oncology 1977 3, 227 (1977)

50) Hattler, B., Jr. and Amos, B.: The Immunobiology of cancer- Tumor antigens and the responsiveness of the host. Monogr. Surg. Sci. 3: 1-34 (1966)

51) Hellström, K.E., Hellström, J.: Immunity to neoblastomas and melanomes Ann. Rev. Med. 23, 19 (1972)

52) Hellström, I., Hellström, K.E., Pierce, G.E., Young, J.P.S.: Cellular and humoral immunity to different types of human neoplasms, Nature 220 (1968) 1352

53) Henle, G., Henle, W.: Epstein-Barr-Virus-Spezific-IgA Serum Antibodies as an outstanding feature of nasopharyngeal Carcinoma Int. Cancer 17 (1976) 1

54) Herr, H.W.: I. Immunobiology of human bladder cancer J. Urol. 115, 147 - 149 (1976)

55) Herzenberg, L.A., Okumura, K., Metzler, C.M.: Regulation of immunoglobulin and antibody production by allotyp suppressor T cell in mice Transplant. Rev. 27, 57 - 83 (1975)

56) Hollinshead, A., Lee, O., Chretien, P., Tarpley, K.: Antibodies to Herpes Virus Non-virion Antigens in Squamous Carcinomas Science 182 (1973) 713

57) Hollinshead,A.C., Jaffurs, W.T., Alpert, L.K.: Isolation and Identifikation of soluble skin-reaktive membran antigens of malignant and normal human breast cells. Cancer Res. 34, 2961 - 2968 (1974)

58) Hunninghake, G.W., Fauci, A.S.: Suppression of the generation of human Con A induced cytotoxic effector cells by Con A-acitivated suppressor cells J. Immun. (Baltimore) 120, 1828 - 1831 (1978)

59) Jondal, M., Holm, G., Wigzell, H.: Surface markers on human T and B lymphocytes A large population of lymphocytes forming non-immune rosettes with SRBC J. Exp. Med. 136, 207 (1972)

60) Jung, H.: Intravitale Lymphabflußuntersuchungen vom Nasen-rachendach beim Menschen. Z. Laryngol. Rhinol. 53 (1974) 769

61) Kaplan, R., Million: Carcinoma of the tonsil: results of radical irradiation with surgery reserved for radiation failure, Laryngoskop. 87: 600 - 607 (1977)

62) Katz AE, Yoo Tj, Harker, La.: Serum Immunglobulin A (IgA) levels in carcinoma of the head and neck. Trans- Am Acad. Ophthalmol. Otolaryngol. 82: 131 - 137 (1976)

63) Katz, SI., Parker, D., Turk, JL.: B-cell suppression of delayed hypersensivity reactions. Nature, 251: 550 - 551, (1974)

64) Keisari, Y., Witz, J.P.: Degradations of Immunoglobulins by Lysosomal Enzymes of Tumors: 1. Demonstration of the Phenomenon Using Mouse Tumors Immunochemestry 10: 565 (1973)

65) Kirchner, R.B., Galser,M., Heberman, R.B.: Suppression of cellmediated tumor immunity by Corynebacterium parvum Nature, 257, 396 - 398, (1975)

66) Kirchner, H.: Suppressor Cells of Immune Reactivity in Malignancy Europ. J. Cancer Vol. 14, pp. 453 - 459 (1978)

67) Kirchner, H., Holden H.T., Heberman, R.B.: Splenic suppressor macrophages induced in mice by injection of Corynebacterium parvum J. Immunol. 115, 1212 - 1216, (1975)

68) Klein, G.: Tumor antigens. Ann. Rev. Microbiology 20: 223, (1966)

69) Lewis, M.G., Philipps, T.M.: The Spezifity of Surface Membrance Immunfluoreszenz in Human Malignant Melanoma Ing. J. Cancer 10, 105 (1972)

70) Lewis, M.G., Philipps, T.M., Rowden, G., Jerry, L.M.: Humoral Immune Reactions in Cancer Patients. In "The Handbook of Cancer Immunology" Vol. 3, edited by H. Waters Garland STPM Press New York and London

71) Lewis, M.G.: Immunology and the melanomas In: Current topics in Mikrobiology 63, 49 (1974)

72) Lewis, M.G., Philipps, T.M., Noble, P.M., Hermann, D.P.: Immune Derangement in Patient with Malignant Melanoma Journal of Cutaneous Pathology 6, 201 (1979)

73) Lindberg: Distribution of Cervical Lymphnode Metastasis from Squamous Cell Carcinoma of the Upper Respiratory and Digestive Tracts. Cancer 40: 145 - 151, (1977)

74) Lopez, M.J., Thomson, D.M.P.: Isolation of breast cancer tumor antigen from serum and urine
Int. J. Cancer 20, 834 - 848 (1977)

75) Mang, W., Hammer, C., Gruber, F.: Immunologische Untersuchungen an Patienten mit Carcinomen der Mundhöhle und der Tonsille
Laryng. Rhinol. 59, 227 - 231 (1980)

76) Mang, W.: Die Behandlung maligner Tumoren der Tonsillen
Vortrag an Klinikum rechts der Isar.

77) Maltz, R., et al.: Carcinoma of the tonsil: Result of combined therapy.
The laryngoskop 84: 2172 - 2180 (1974)

78) Meal, C.C., et al.: An analysis of therapie for carcinoma of the tonsil. Analysis of failures and factors affekting prognosis.
Am. J. Roentgenol. 114: 43 - 57 (1972)

79) Million, R.R., Fletcher, G.H.: Evaluation of elektive irradiation of the neck for squamous cell carcinoma of the nasopharynx tonsillar, fossa and base of the tongue.
Radiology 78: 973 - 988, (1962)

80) Minear, W.L., Arey, L.B., Milton, J.T.: Prenatal and postnatal development and form of crypts of human palatine tonsil
Arch. Otolaryng. 25 (1937) 487

81) Möller, G.: Demonstration of Mouse Isoantigens at the Cellular Level by the Fluorescent Antibody Technique
J. Exp. Med. 114: 415 (1961)

82) Muna, N.M.PhD., Marcus, S., Smart, S.: Detection by Immunfluorescence of Antibodies Specific for Human Malignant Melanoma Cells
Cancer Vol. 23 Januar 1969

83) Mündnich, K.: Die Geschwülste des Mesopharynx. In Hdb. d. Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Bd. II/I hrs. von Berendes

84) Naumann, H.H.: Die operative Behandlung des Tonsillencarcinoms Suchardt, Fortschritte d. Kiefer-und-Gesichts-Chir. Bd. XIII

85) Nelson, DS.: Nonspezific Immunoregulation by macrophages and their products, Immunobiology of the Macrophage
Ed. by DS Nelson, Academic Press New York pp. 235 - 257 (1976)

86) Nelson, K.A., Sjörgren, H.O., Rosengren, J.E.: Detection of Antibodies to Embryonic Antigens in Sera of Multiparous or Colon Tumor-Bearing Rats by a New Indirekt Immunfluorescence Assay Int. J. Cancer 20, 227 - 233 (1977)

87) Ninnemann, J.L.: Melanoma-associated immunosuppression through B cell activation of suppressor T cells J. Immunol. (Baltimore) 120, 1573 - 1579 (1978)

88) Olkowski, L.Z., Wilkins, S.A.: T-Lymphocyte Levels in the Peripheral Blood of Patients with Cancer of the Head and Neck The Am. J. of Surg. 130, 440 - 444, (1975)

89) Olkowski, Z.L., Mc Laren, J.R.: Effects of radiation therapy on circulating T-cell levels
Anat. Rec. 181 A: 439, (1975)

90) Perez, C.A.: Malignant Tumors of the Tonsil: Analysis of Failures and Factors Affecting Prognosis
Am. J. Roentgenol. Ther. Nucl. Med., 114: 43 - 58 (1972)

91) Perez, C.A., Lee, F.A.: Carcinoma of the tonsillar fossa. Significance of dose irradiation and volumes treated in controll of the primary tumor and metastatic neck nodes. Int. J. Rad. Onco., Biology., Phys. 1: 817 - 827 (1976)

92) Perez, C.A.: Non-randomized comparison of preoperative irradiation and surgery versus irradiation alone in the management of carcinoma of tonsil Am. J. Roentgenol., Rad. Ther. Nucl. Med. 126: 248 - 260 (1976)

93) Philipps, T.M., Lewis, M.G.: Immune Reaktions in Patients with Bladder and Prostatic Cancer. The Australian and New Zealand Journal of Surgery 48, 545 (1978)

94) Piessens, W., Campbell, B., Churchill, W.H.: Inhibition or enhancement of rat mammary tumors dependent on doses of BCG J. Natl. Cancer Inst. 59, 207 - 211, (1977)

95) Pope, B.L., Withney, R.B.: Two distinc populations of suppressor cells in the spleens of mice bearing methylcholanthrene - induced tumors J. Immun. (Baltimore) 120, 2033 - 2040 (1978)

96) Popovic, D., Gill, L., Gisson, G., Applebaum, E., Anderson, B.: Detektion and Lokalisation of Tumor-Associated Immune Components of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Trans. Am. Acad. Ophthal. Otolaryngol. 82, 119 (1976)

97) Quenelle, D.: Tonsil carcinoma-treatment results The Laryngoscope, Vol. LXXXIX No. 11, pp. 1842 - 1846 Nov. 1979

98) Rich, S.S., Rich, R.R.: Regulatory mechanisms in cell-mediated immune responses III
J. Exp. Med. 143, 672 - 677 (1976)

99) Romagnani, S., Maggi, E., Amodori, A.: Co-operation between T and B lymphocytes from human tonsils in the response to mitogens and antigens.
Clin. exp. Immunol. 28, 332 - 340 (1977)

100) Scanlon, P.W., et al.: Cancer of the Tonsil: 131 Patients Treated in 11 Year Period 1950 Trough 1960
Am. J. Roentgenol., Radium Ther. Med., 100: 894 - 903, (1967)

101) Schwab, W.: Praxis der Krebsbehandlung in der Oto-Rhino-Laryngologie
Laryng. Rhinol. 59 (1980) 641 - 648

102) Simkovics, J.G., Campos, L.T., Kay, D.: The concept of immunotherapy of human sarcomas: the need for an in vivo monitoring assay
Ann. Clin. Lab. Sci. 3, 414 (1973)

103) Sjörgren, H.O., Hellström, I., Bansal, S.C., Hellström, K.E.: Suggestive evidence that the "blocking antibodies" of tumor bearing individuals may be antigen-antibody complexes
PNAS 68, 1372 - 1375 (1971)

104) Sobotta-Becher: Atlas der Anatomie des Menschen
Urban und Schwarzenberg, München - Berlin (1962)

105) Sofen, H., O'Toole, C.: Antisquamous Tumor Antibodies in Patient with Squamous Cell Carcinoma
Cancer Research 38, 199 (1978)

106) Tada, T., Taniguchi, M.: Properties of the antigen-specificsuppressiv T-cell factor in the regulation of antibody response of the mouse
Exp. Med. 144, 713 - 725 (1976)

107) Tada, T., Taniguchi, M., Okumura, K.: Regulation of homocytotropic antibody formation in the rat
II. Effect of X-irradiation
J. Immunol. 106, 1012 - 1018 (1971)

108) Tada, T., Taniguchi, M., Okumara, K.: Regulation of antibody response by antigen spezific T-cell factors bearing I-region determinants.
Prog. Immunol. 3: 369 - 377 (1977)

109) Tada, T.: Regulation of reagenic antibody formation in animals
Prog. Allergy 19, 122 - 194 (1975)

110) Terz, J.J., Farr, H.W.: Carcinoma of the tonsillar fossa.
Surg. Gynecol. Obstet 125: 581 - 590 (1967)

111) Uhlmann, Ch., Krueger, G.R.F.: Nasopharyngeal and Adjacent Neoplasms:
A Clinico-Pathologic and Immunologic Study

112) Vetto, R.M., Burger, D.R., Vandenbark, A.A., Nolte, J.: Influence of Serum Blocking Faktors on Cancer Patients Undergoing Immunotherapy
The American Journal of Surgery, Vol. 130
237 - 243 Aug. 1975

113) Waldmann, T.A., Broder, S.: Suppressorcells in regulation of the immune response
Prog. Clin. Immunol. 3: 155 - 199 (1977)

114) Waldmann, T.A.: Durm, M., Broder, S.: Role of suppressor T-cell in pathogenesis of common variable Hypogammaglobulinaemia
Lancet 2: 609 - 613 (1974)

115) Waldmann, T.A., Blease, R.M., Broder, S.: Disorders of suppressor immunoregulatory cells in the pathogenesis of immunodeficiency and autoimmunity
Ann. Intern. Med. 88, 226 - 238, (1978)

116) Wang: Managment and Prognosis of Squamous-Cell Carcinoma of the Tonsillar Region
Radiology 104: 667 - 671, September 1972

117) Wanebo, H.J., Jun, M.Y., Strong, E.W.: T-cell deficiency in patients with squamous cell cancer of the head and neck
The Am. J. of Surg. 130, Oct. 1975

118) Ward, G.E., Robben, J.O.: A composite operation for radical neck dissektion and removal of cancer of the mouth
Cancer Res. 4, 98 - 109 (5)

119) Warnatz, H.: Tumorimmunologie
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1975)

120) Watson, R.D., Smith, A.G., Levy, J.G.: The detection of immunodiffusion of tumor associated antigenic components in extracts of human bronchogenic carcinoma
Brit. J. Cancer 32, 300 (1975)

121) Weinfurtner, F., Hammer, C., Chaussy, C.: Suppressoraktivity in the peripheral blood of patients with carcinoma of the bladder and the kidney
XI. Tagung der Gesellschaft für Immunologie
Innsbruck 1. - 3. 10. 1979

122) Wick, G., Baudner, S., Herzog, F.: Immunfluoreszenz
Die Medizinische Verlagsgesellschaft (1976)

123) Wilmes, E., Wolf, H., Deinhardt, F., Neumann, H.H.: Die Bedeutung von Epstein-Barr-Virus-Antikörpern für Diagnose und Verlauf des Naso-Pharynxcarcinoms, Laryngol. Rhinol. 58, 911 (1979)

124) Wey, W., Hüning, R.: Tumoren der Tonsillen
Schweiz. med. Wochenschrift 108, 903 - 906 (1978)

125) Wey, W.: Aspekte der Tumortherapie mit Bleomycin
Med. et Hyg. (Genêve) 30, 1557 - 1558 (1972)

126) Zembala, M., Asherson, G.L., Nomorolsky, J., et al.: Contact sensivity to picrilcloride: the occurrence of B-suppressor cells in lymphnodes and spleen of immunized mice
Cell Immunol. 25: 266 - 278 (1976)

127) Zembala, M., Mytar, B., Popiela, T., Asherson, G.L.: Depressed in vitro peripheral blood lymphocyte response to mitogensin cancer patients: The role of suppressor cells
Int. J. Cancer: 19, 605 - 613 (1977)

128) Shou, L., Schwartz, S.A., Good, R.A.: Suppressor Cell Activity after Con A Treatment of Lymphocytes from Normal Donors
J. Exp. Med. 143: 1100 (1976)

Anhang

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h. c. W. Brendel danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes am Institut für Chirurgische Forschung.

In besonderer Weise bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. vet. C. Hammer für die hilfreiche Unterstützung sowohl theoretisch durch die Einführung in den immunologischen Problemenkreis als auch praktisch durch die Anregungen bei der Versuchsdurchführung.

Herrn Dr. Mang danke ich besonders für die gute Zusammenarbeit und für die ausgezeichnete Organisation und Durchführung der Tumorsprechstunde.

Für die Unterstützung bei der Durchführung und Auswertung der Versuche möchte ich mich vor allem bei Frl. A. Allmeling und bei Frl. G. Höbel sowie bei den Assistentinnen der immunologischen Abteilung des Institutes für Chirurgische Forschung bedanken.

Insbesondere bedanke ich mich bei meinem Kollegen F.Weinfurtner für anregende Diskussionen und tatkräftige Unterstützung während der Versuche.

Lebenslauf

Name	Franz Xaver Gruber
Geburtsdatum	16. Oktober 1954
Geburtsort	8221 Kienberg, Grub 1, Kreis Traunstein
Wohnort	8221 Kienberg, Grub 1
Eltern	Gruber Christian, Bürgermeister
	Gruber Martha, geb. Bernauer, Hausfrau
Schulen	1961 - 1966 Volksschule Kienberg
	1966 - 1975 Humanistisches Gymnasium Metten / Deggendorf
	1975 - 1981 Medizinstudium an der LMU München

Ab 1. Januar 1982 arbeite ich als Assistenzarzt auf der Chirurgischen Abteilung im Stadtkrankenhaus Memmingen